# ZUR PHARMAKOCHEMIE VON HERBA EUPHRASIÆ

## INAUGURALDISSERTATION

DER

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BERN
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOCTOR PHARMACIÆ

VORGELEGT VON
ERNST ELMIGER, APOTHEKER
VON ERMENSEE (LUZERN)

BUCHDRUCKEREI C. THOMA ST. GALLEN

1943

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547621_0078

# ZUR PHARMAKOCHEMIE VON HERBA EUPHRASIÆ

## INAUGURALDISSERTATION

DER

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER UNIVERSITÄT BERN
ZUR ERLANGUNG DER WÜRDE EINES
DOCTOR PHARMACIÆ

VORGELEGT VON
ERNST ELMIGER, APOTHEKER
VON ERMENSEE (LUZERN)

---

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Casparis, von der medizinischen Fakultät zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 8. Dezember 1943.

*Der Dekan der Med. Fakultät:*
Prof. Dr. E. Glanzmann.

BUCHDRUCKEREI C. THOMA ST. GALLEN

Es sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer,

HERRN PROF. DR. P. CASPARIS,

an dieser Stelle für die freundliche Unterstützung, die er meiner Arbeit zukommen ließ, den herzlichsten Dank auszusprechen.

Die vorliegende Arbeit wurde am Pharmazeutischen Institut der Universität Bern ausgeführt.

*Meinen lieben Eltern*

# INHALTSVERZEICHNIS

## A. ALLGEMEINER TEIL


1. Einleitung . . . . . 5
2. Name. - Vorkommen . . . . . 6
3. Botanisch-Pharmakognostisches . . . . . 7
4. Chemie . . . . . 17
5. Historisches. - Anwendung und Wirkung . . . 28


## B. SPEZIELLER TEIL

**Eigene Untersuchungen.**

### I. Voruntersuchungen.


1. Extraktion kleiner Drogenmengen . . . . . 31
2. Chromatographische Untersuchung der gewonnenen Extrakte . . . . . 32
3. Herstellung von Auszügen aus ein und derselben Drogenmenge mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln . . . . . 35
4. Essigätherextrakt . . . . . 37
5. Aethylalkoholextrakt . . . . . 41


### II. Hauptuntersuchungen.


1. Essigätherextrakt . . . . . 46
2. Methylalkoholextrakt . . . . . 52
3. Kaltwasserextrakt . . . . . 84
4. Zusammenstellung der Resultate . . . . . 86

Literaturverzeichnis . . . . . 87



R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

## A. Allgemeiner Teil

### 1. Einleitung.

Eine Pflanze kann als Quelle heilbringender Wirkung auf zweifache Art zu Bedeutung gelangen. Mit Hilfe verfeinerter Methoden vermag die Phytochemie aus vielen Pflanzen wertvolle Substanzen zu isolieren und sie in reiner Form darzustellen. Diese Wirkstoffe, in ihrer chemischen Konstitution erforscht und pharmakologisch geprüft, bilden einen kostbaren Bestandteil unseres Arzneischatzes.

Anderseits kann die ganze Pflanze, oder zumindest Teile derselben zur Arzneibereitung Verwendung finden. In diesem Falle sind an der Wirkung Begleitstoffe oft beteiligt, die im Verband mit den eigentlich aktiven Substanzen einen Wirkungskomplex bilden.

Die Volksmedizin kann nur von letzterer Art der Anwendung ihrer Heilpflanzen Gebrauch machen; denn sie besitzt keine Kenntnisse über deren Inhaltsstoffe. Das Wissen um die Heilkräfte der Kräuter entstand wohl rein zufällig oder intuitiv. Dem Aberglauben weiten Spielraum gewährend, pflanzte es sich auf schriftlichem und mündlichem Weg als Erfahrungsgut fort. Ob es zu Recht besteht, darüber vermag die Pflanzenchemie in vielen Fällen zu entscheiden. Ihr steht es zu, Volksheilpflanzen auf ihre Inhaltsstoffe hin zu prüfen und sich aus den Ergebnissen ein Urteil über den therapeutischen Wert nicht offizineller Gewächse zu bilden.

---

**Euphrasia officinalis,** der Augentrost, aus der Familie der Scrophulariaceae, schien uns als Volksheilpflanze besonderer Beachtung wert. Seit Jahrhunderten wird sie in der Volksheilkunde als wirksames Mittel vor allem, wie ja der Name sagt, gegen verschiedene Augenleiden gepriesen. Auch heute noch finden ihre oberirdischen Teile äußerlich und innerlich in bestimmten Arzneizubereitungen Verwendung. Ueber die Inhaltsstoffe der Pflanze liegen verschiedene Angaben vor. Als wichtigste Bestandteile werden angeführt eine **Gerbsäure** (sog. Euphrastannsäure), ein **Bitterstoff** und ein farbstofflieferndes **Glykosid,** von dem vermutet wird, es sei mit Rhinanthin identisch. Außerdem soll die Pflanze **aetherisches Oel, fettes Oel, Wachs** und **harzartige, aromatische Substanzen** enthalten [1] [2] [3] [4].

Gewisse Angaben stützen sich indessen auf bloße Vermutungen. Eine ausführliche Darstellung der bisherigen Kenntnisse der Inhaltsstoffe findet sich auf Seite 17 u. f. Daraus ist ersichtlich, daß die Droge nur mangelhaft untersucht und eine erneute pharmakochemische Bearbeitung wünschenswert ist. Es sollte daher in unserer Arbeit versucht werden, diese und jene Frage abzuklären und eventuell bisher unbekannte organische Substanzen aus der Pflanze zu gewinnen.

## 2. Name. — Vorkommen.

Die ursprüngliche Bezeichnung der Pflanze soll griechischer Herkunft sein und „Euphrosyne" gelautet haben. Es wird angenommen, dieser Name stamme vom griechischen Worte ευφρασία = erfreuen, ergötzen [1]). Die Benennung entstand offenbar gefühlsmäßig; sie mochte der Freude Ausdruck geben, die der Beschauer beim Anblick der zierlichen Pflanze und besonders ihrer Blüten empfand. Später, so berichtet Leonhart Fuchs [5]), hätten die „vnerfarnen der spraachen" den Namen in „Euphrasiam" umgewandelt. Dieser Autor teilt ferner mit, daß das Kraut auch „Ophtalmica" oder „Ocularis" genannt wurde, Namen also, die besonders deutlich die von alters her der Pflanze zugeschriebene Heilkraft bei Augenleiden veranschaulichen.

Mannigfaltig sind die Bezeichnungen, die später im Zusammenhang mit der volksmedizinischen Verwendung des Augentrosts entstanden. Als typische Beispiele mögen dienen: Augenblust, Augenkraut, Augenweide, Tageleuchte, Lichttanzkraut, Brillenbrecher (frz. Casse-Lunettes, Luminet; engl. Eye-bright herb). An diese Stelle gehört auch die Bezeichnung „Hirnkraut"; sie deutet auf die angeblich gedächtnisstärkenden Eigenschaften der Droge hin. Die bei Hegi [6]) angeführten Benennungen wie „Brustdee" (Nordböhmen), „Zahnwehkraut" und „Weißes Ruhrkraut' (ehem. Oesterreich) rühren offensichtlich von der vielerorts gepflegten innerlichen Anwendung des Heilkrautes her (s. a. unter „5. Historisches - Anwendung - Wirkung", S. 28).

Der Bauer hat sich sein eigenes Urteil über die Pflanze gebildet. Er hat trefflich beobachtet, daß der Augentrost als Halbschmarotzer dort, wo er reichlich auftritt, den Graswuchs beeinträchtigt und damit indirekt den Milchertrag des Viehs vermindert. Dieser Feststellung verdankt denn auch das Kraut folgende, in der Schweiz gebräuchliche Namen: Weiddieb, Heuschelm, Milchdieb oder Gibinix (= Gib nichts). Andernorts wurde es aus demselben Grunde bezeichnet als: Oehmdfresser, Wiesenwolf, Milchschelm, Milchtöteln, Milchraber (= räuber), Milchdiabal, Noinzela (Nichtsnutz) [6]).

Eine weitere Gruppe von Namen steht in Beziehung zur Blütezeit des Augentrosts. Hier verdienen nachstehende einheimische Bezeichnungen der Mitteilung: Augste(n)-Bluest, Augster, Herbstblust, Herbstbriegger.

In ihrem Buche „Gottessegen der Kräuter einst und immerdar" gibt H. Sieg[7]) in anschaulicher Weise den Ursprung der volkstümlichen Benennung „Gewitterblume" (Schlesien) und „Donnerkräutchen" (Hessen-Nassau) bekannt. Danach sollte man vor dem Pflücken des Kräutleins „zunächst einmal nach oben schauen. Zieht nämlich an einem warmen Tage zur Sommerszeit ein Gewitter heran, so bewahre einen der Himmel davor, das Blümlein zu dieser Zeit zu sammeln: der Blitz würde dort einschlagen, wo man die abgepflückte Pflanze aufbewahrt und außerdem würde das Blümlein blau werden". Letztere Behauptung darf keineswegs als willkürlich betrachtet werden; vielmehr mag sie auf genauer Beobachtung beruhen und verdient unsere Aufmerksamkeit. Eine Blaufärbung des frisch eingebrachten Krautes kann sehr wohl so zustande kommen, daß der in der Pflanze vorhandene glykosidische Körper durch enzymatische Einflüsse zur Abspaltung eines blau gefärbten Aglukons veranlaßt wird.

Um das eigentliche Thema der **Namengebung** zu beschließen, sei noch erwähnt, daß beim Volke bisweilen auch andere Gewächse den Namen Augentrost führen, so z. B. Anagallis arvensis, der Ackergauchheil, aus der Familie der Primulaceen.

Die Gattung Euphrasia überrascht durch ihre ausgedehnte **Verbreitung** in Europa. Ihre formen- und artenreichen Vertreter wachsen in der Schweiz und Oberitalien, im nördlichen Spanien, in Frankreich, Holland, Belgien; sie leben im südlichen England und ziehen nordwärts nach Dänemark und Südschweden. Die Pflanze gedeiht in Deutschland und im ehemaligen Oesterreich, ferner in Ungarn, Bosnien und Westrußland. In Griechenland scheint sie zu fehlen, tritt aber in Klein-Asien auf. Außereuropäisch fühlt sie sich heimisch in den Vereinigten Staaten von Nordamerika, in Neuseeland, den Anden Südamerikas und Australien.[6]) [8])

Einzelheiten über das Vorkommen von Euphrasia in der Schweiz finden sich im nächsten Abschnitt.

### 3. Botanisch-Pharmakognostisches.

Die Pflanze verdankt ihren Formenreichtum, auf den wir bereits hinwiesen, den stark unterschiedlichen Verhältnissen ihrer Standorte. Sie wächst bald an steinigen, sonnebeschienenen Stellen,

bald zieht sie feuchte, schattige Orte vor. Aus der Ebene steigt der Augentrost hinauf über Alpenmatten bis in die hochalpine Region; aus warmen Alpentälern (500 m) wagt er sich in die nivale Stufe, auf Höhen von über 3000 m. (Euphrasia Salisburgensis; Wallis.) Euphrasia wurde im Rhonesand des Wallis festgestellt (Euphrasia Rostkoviana f. Vallesiaca [6]); im Mittelland, auf den Kämmen des Jura und in den Voralpen trifft man sie häufig auf Wiesen, Heiden und Getreideäckern, an trockenen Wegrändern und Abhängen, in sonnigen Wäldern, auf karg bewachsenen Hügeln und an steinigen Waldstellen; im Gebirge blüht sie auf Felsschutt und Geröll.

Je nach Standort wechselt ihre Größe: Es wurden winzige Art-Exemplare von nur 0,5 cm (Euphrasia minima) gefunden, im Gegensatz zu solchen, die eine Höhe von 75 cm erreichten (Euphrasia Rostkoviana, Euphrasia stricta). Das Auftreten von Arten mit verschieden großen Blüten kann auf die nämliche Ursache zurückgeführt werden. Es soll auf diese Erscheinung bei der Beschreibung der Blüte näher eingetreten werden.

Die Pflanze, der Familie der Scrophulariaceae (Rhinanthaceae-Rhinanthoideae) angehörend, weist folgende morphologischen und biologischen Merkmale auf:

Der Stengel ist aufrecht, dünn, beinahe stielrund und zeigt bei fast allen Arten eine weiche Behaarung (Trichome); die Härchen sind abwärts gerichtet. Der ziemlich reichlich beblätterte Stengel verzweigt sich meist schon unter der Mitte; seine Verästelungen sind gegenständig, bisweilen im obern Teile wechselständig (Euphrasia Salisburgensis).

Die gegenständigen (selten alternierenden) Blätter sitzen direkt am Stengel und umfassen ihn fast vollständig. Sie sind rundlich-eiförmig bis eiförmig-lanzettlich, gesägt oder gezähnt, die Zähne häufig begrannt. Ganzrandige Blätter tragen z. B. Euphrasia lutea und Euphrasia viscosa. Das Vorhandensein oder Fehlen von Drüsen oder Haaren ist für die einzelnen Arten charakteristisch und für die Systematik der Gattung von Bedeutung.

Ueber die Keimblätter schreibt R. v. Wettstein [9]):

„Ein auffallender Unterschied gegenüber den Laubblättern liegt in dem Mangel der Behaarung. Selbst dichtbehaarte Arten, wie Euphrasia Rostkoviana und Euphrasia hirtella haben kahle, oder nahezu kahle Cotylen."

Für sämtliche Euphrasia-Arten ist die Zygomorphie ihrer Blüten ein Charakteristikum. Kurzgestielt sitzen sie am Ende des Hauptstengels und der Zweige. Ihr vierzähniger Kelch (selten mit einem kleinen fünften Zahn versehen) ist gewöhnlich kahl, in einigen Fällen mit kleinen Borsten besetzt. Die Krone ist im untern Teile röhrenförmig; dieser stellt den „Rachen" des Rachenblütlers dar.

Den obern Teil der Krone bilden zwei Lippen, von denen die obere zwei-, die untere dreiblätterig ist. Die Antheren und das Griffelende werden überwölbt von den zwei Blättern der Oberlippe, die bis weit hinauf miteinander verwachsen und außen behaart sind. Die Kronblätter sind weiß, blaßblau oder blau bis violett, doch kommen ausgesprochen gelbblütige Arten vor (Euphrasia lutea, E. Christii = E. alpina subsp. Christii). Längsadern durchziehen die Unterlippe als feine, violette bis purpurrote Streifen. Aus dem Blütenschlund leuchten häufig ein oder mehrere gelbe Flecken.

Hinsichtlich der Corollenlänge teilt Wettstein[9]) die Gattung in 3 Arten ein. Der Verfasser vermag auf diese Weise die engen Beziehungen, die im Pflanzenreich zwischen Blütengröße und Standortsverhältnissen einerseits, Blüteneinrichtung und Befruchtung anderseits bestehen, bei der Gattung Euphrasia besonders deutlich zu demonstrieren. Seine Einteilung lautet:

**„1. Arten mit großen Blüten.**

Corollenlänge: 12 bis 15 mm. Die großblütigen Euphrasia-Arten sind typische Insektenblüten, die Größe und Augenfälligkeit der Corollen, das Vorkommen in insektenreichen Gebieten steht damit zweifellos im Zusammenhang. Beispiele: Euphrasia Rostkoviana, E. versicolor, E. picta, E. Kerneri."

Vorkommen in der Schweiz[10]):

a. E. Rostkoviana. Ueberall, bis 2800 m Höhe.

b. E. versicolor. Alpen und Voralpen; Tessin: Lukmanier, Camoghè im Val Piora, Mte. Ghiridone; Kt. Freiburg; Berner Oberland: Abländtschen, zwischen Großer Scheidegg und Faulhorn, Mürren; Uri: Maderaner-, Felli- und Meiental; Schwyz: Rigi; St. Gallen: Vättis, Wildhaus; Graubünden: Sta. Maria am Lukmanier, Bosco della Palza, Maloja, Flimserstein, Oberhalbstein, Davos; Jura: Montoz de Malleray (Bern).

c. E. picta. Berner Oberland; Kandersteg; Uri: Maderanertal; St. Gallen: Wideralp am Säntis; Graubünden: Vals, Churwalden, Arosa.

d. E. Kerneri. Tessin: ob Breno im Malcantone; Graubünden: Cresta im Val Avers; Thurgau: bei Gottlieben.

**„2. Arten mit mittelgroßen Blüten.**

Corollenlänge: 8 bis 10 mm. Bei den Arten mit mittelgroßen Blüten finden sich Einrichtungen, welche sowohl Xenogamie als auch Autogamie bezwecken; letztere tritt immerhin sicher ein, wenn auch erstere ausbleibt; es steht wohl mit der Möglichkeit der Autogamie in Zusammenhang, wenn die Corollen in Farbe und Größe weniger auffallend als die der großblütigen Arten sind. Beispiele: Euphrasia stricta, E. pulchella."

Vorkommen in der Schweiz:

a. E. stricta. Vom Mittelland bis in die Alpentäler: Solothurner Jura: Weißenstein (Schilizmätteli, 1187 m); Graubünden: Splügen (2260 m).

b. E. pulchella. Alpine Stufe der Alpen, im Gebiete der E. versicolor und minima; das Vorkommen im Wallis ist nicht ganz sichergestellt: angeblich Rhonegletscher und Eggishorn; Tessin: Pico Sassello, Cima di Cagnone (Val Verzasca), Piora; Berner Oberland: Kleine Scheidegg gegen Männlichen, Aaregletscher.

**3. Arten mit kleinen Blüten.**

Corollenlänge: 4 bis 7 mm. Die Corollen der kleinblütigen E.-Arten sind der Autogamie angepaßt; Xenogamie ist nicht ausgeschlossen, tritt aber nur fakultativ ein. Die geringe Größe der Blüten, ihre wenig auffallende Färbung, die geringe Ausbildung des Nektariums, das Vorkommen vieler hierhergehörender Arten in hochalpinen oder nordischen Gebieten dürfte mit dieser Blüteneinrichtung im Zusammenhang stehen. Beispiele: Euphrasia Salisburgensis, E. minima, E. drosocalyx."

Vorkommen in der Schweiz:

a. E. Salisburgensis. Jura und Talsohle bis hochalpine Region. Berner Oberland: Kiental („Kuhgwindli" ob Tschingelboden, 1678 m); Graubünden bis 2900 m; Wallis bis 3300 m; am Walensee und im St. Galler Rheintal zuweilen in die Täler herabsteigend [10]).

b. E. minima. Jura: nördlich bis Chasseral; Alpen: verbreitet bis in die nivale Stufe (auf Urgestein und Schiefer); Graubünden: Piz Languard im Engadin, 3250 m), Maloja.

c. E. drosocalyx. (Bei Hegi[6]) als subspec. von Euphrasia minima angeführt). Alpen. Wallis: Col de Balme (2204); Tessin: zwischen Airolo und Bignasco; Berner Oberland: Große und Kleine Scheidegg, Mürren; Unterwalden: Frutt; Appenzeller Alpen; Graubünden: Bernina, St. Moritz, Bevers-Tal.

Auf die morphologischen Merkmale der Pflanze zurückgreifend, bedürfen noch der Fruchtknoten, die Frucht und die Samen der Beschreibung.

Der oberständige, seitlich zusammengedrückte Fruchtknoten ist zweifächerig. Jedes Fach enthält bei der Mehrzahl der Arten zahlreiche anatrope Samenknospen.

Die Frucht ist eine Kapsel und, wie der Fruchtknoten, zusammengedrückt, eiförmig oder elliptisch, kahl oder fein behaart. Ihre beiden Fächer öffnen sich loculicid.

Die verhältnismäßig großen, braunen Samen sind eiförmig, längsfaltig, ihre Rippen flügellos.

Genaue Beobachtungen über die Keimung der Samen und die Ernährungsverhältnisse des sich entwickelnden Halbparasiten verdanken wir ebenfalls Wettstein[9]). Die Zusammenfassung seiner Ergebnisse lautet:

„1. Die Keimung der Euphrasia-Samen erfolgt unabhängig von der Gegenwart eventueller Nährpflanzen.

2. Die Keimung erfolgt unabhängig vom Zeitpunkt der Aussaat im Frühjahr.

3. Die Samen verlieren, wenn sie nicht im nächsten Frühjahre zur Keimung kommen, ihre Keimfähigkeit.

4. Die Keimpflanze vermag aus den in den Cotyledonen enthaltenen Reservestoffen bei unbehinderter Atmung und Transpiration nur bis zur Ausbildung der ersten Primordialblätter zu gelangen, in diesem Stadium braucht sie weder Zuschuß an Nahrung durch Parasitismus noch Aufnahme anorganischer Verbindungen aus dem Substrate.

5. Zur Weiterentwicklung der jungen Pflanze braucht dieselbe zunächst den Parasitismus nicht, sie vermag Blätter ohne diesen zu entwickeln, doch bleiben die Pflanzen klein und schmächtig.

6. Zur vollständigen Entwicklung, insbesondere zur Bildung von Blüten und Fürchten, ist der Parasitismus jedoch unbedingt notwendig. (Nährpflanzen sind Gramineen und Cyperaceen[6]).

7. Die Anlage der Haustorien ist von der Gegenwart geeigneter Nährwurzeln abhängig, erfolgt also wahrscheinlich durch chemotaktischen Reiz."

Die Gattung Euphrasia weist die Erscheinung des Saisondimorphismus auf. Die Blütezeit der aestivalen Rasse dauert vom Mai bis Juli, die der autumnalen von Ende Juli bis Oktober. Zur Zeit der Blüte erfolgt auch das Sammeln der oberirdischen Pflanzenteile.

Der unter dem Namen Euphrasia „officinalis" bekannte Augentrost stellt keine einheitliche Art dar, vielmehr handelt es sich bei ihm um zwei einander ähnliche Species: Euphrasia nemorosa und Euphrasia gracilis. Der Botaniker Rostkov (Arzt in Stettin, 1770 bis 1848) unterschied dann als Erster von Euphrasia „officinalis" die nach ihm benannte und bei uns am häufigsten auftretende Euphrasia Rostkoviana[6]). Es folgen ihr, bezüglich Häufigkeit, Euphrasia stricta und Euphrasia Salisburgensis.

a. **Euphrasia Rostkoviana.** Typische Merkmale: Buschigästiger Stengel; dichtbehaarte, genäherte, beiderseits meist 5-zähnige Laubblätter; großblütige Art, weiße oder bläuliche Krone mit violetten Längsstreifen, gelber Fleck auf der Unterlippe; autumnale Form (Juli bis September).

b. **Euphrasia stricta.** Typische Merkmale: Stengel trägt meist schon vom Grunde an sehr lange Aeste; untere Stengelblätter keilförmig, mittlere und obere eiförmig, spitz, mit begrannten Zähnen; mittelgroße Blüten, Krone hell-lila oder weißlich, gelber Schlundfleck und dunkle Streifen; blüht von Juni bis September.

c. **Euphrasia Salisburgensis.** Typische Merkmale: Einfacher oder im untern Teile verästelter Stengel: untere Stengelblätter keilförmig, stumpf, beiderseits mit 1—2 stumpfen Zähnen, obere Stengelblätter spitz, beiderseits mit 2—3 begrannten Zähnen; sämtliche Laubblätter sowie der Kelch sind völlig kahl, die Blätter sind höchstens auf der Unterseite, den Nerven oder dem Rande mit ungestielten Drüsen oder spärlichen Haaren besetzt; kleinblütige Art, meist weißlich mit blauer Oberlippe, oder ganz blau, purpurn oder violett, selten teilweise gelb; blüht von Juli bis September.

Die zahlreichen Arten der Gattung Euphrasia stehen sich in ihrem Habitus häufig sehr nahe, sodaß es oft schwer fällt, sie gegeneinander abzugrenzen. Von den rund 100 in Mitteleuropa festgestellten Species und Subspecies kommen in der Schweiz ca. 25—30 vor.

Die meisterhafte Monographie Wettsteins[9]) kann als grundlegend für die Systematik, die Anatomie, Biologie und Physiologie der Gattung Euphrasia bezeichnet werden. Der Verfasser hat in seinem Werke den anatomischen Bau der einzelnen Pflanzenteile beschrieben und auf zahlreichen Abbildungen dargestellt. Seine umfassenden vergleichend-anatomischen Studien ermöglichten ihm auch die Beantwortung der interessanten Frage nach der Benutzbarkeit der Anatomie für Zwecke der Systematik innerhalb der genannten Gattung.

Bei Solereder[11]) findet sich im Text eine Zeichnung der bei Euphrasia vorkommenden, charakteristisch gebauten „Schilddrüsen".

In den Arbeiten von Hoch, F. A.[12]), Born, A.[13]) und Koch, E.[14]) werden ebenfalls einige typische anatomische Merkmale von Euphrasia erörtert (keine bildlichen Darstellungen). Die Angaben dieser Autoren bilden im ganzen eine Bestätigung und nur in wenigen Fällen eine Ergänzung der Befunde Wettsteins[9]). In Anbetracht der teils schwer zugänglichen Literatur mögen die Ergebnisse in unserer Arbeit mitgeteilt werden; selbstredend fand dabei das Werk Wettsteins[9]) besondere Berücksichtigung.

## ANATOMIE.

### 1. Der Stengel annueller Arten.

Epidermis: in der Regel durch Anthocyan gefärbt; sie trägt häufig nebeneinander 3 Arten von Stengelhaaren: Trichome, Köpfchenhaare und Drüsenhaare.

Trichome: bei den meisten Arten zahlreich und sehr früh auftretend; einfach, ein- bis dreizellig, allmählich zugespitzt; bei manchen Arten (Euphrasia Rostkoviana, E. hirtella, E. speciosa) gemengt mit Köpfchenhaaren: drüsig, gestielt (auf den Blättern häufig).

Drüsenhaare: bei nahezu allen Arten vorkommend; bestehend aus einer Basalzelle und den beiden Zellen des Köpfchens.

Rindenparenchym: aus 3 bis 5 Lagen chlorophyllhaltiger Zellen bestehend.

Endodermis: deutlich ausgebildet. Bastzellen fehlen.

Xylem: aus radial angeordneten Elementen; enthält Schrauben- und Tüpfelgefäße. Außer dem Xylem sind verholzt, in der blühenden Pflanze: die äußeren Partien des Markes um die radialen Wände der Gefäßbündelscheide; zur Zeit der Fruchtreife: zunehmende Verholzung der Zellen der Gefäßbündelscheide. Die Membranen der Epidermis geben schwache, aber deutliche Holzstoffreaktion.

Libriformgewebe: verbindet die einzelnen Gefäßbündel miteinander, radial nur wenig schmäler als diese. Die Zellen der Libriformbrücken gehen allmählich in das Markgewebe über, wobei sie kürzer und ihre Querwände horizontal werden. Dieses Uebergangsgewebe umgreift, noch ziemlich dickwandig und nach innen allmählich zartwandiger werdend, die Ring- und Spiralgefäße und deren zugehöriges, zartes Holzparenchym, diesen so einen mechanischen Schutz gewährend.[13])

Markstrahlen: fehlen.

„Das Bemerkenswerteste des Holzkörpers der Scrophulariaceen", schreibt Born[13]), „ist, daß ihm sehr oft, ja meistenteils, typische Markstrahlen fehlen. Das Vorhandensein oder Fehlen derselben ist für die Gattung konstant."

Kambium: Nach Abschluß der Blütenentfaltung stellt das Kambium die Neubildung von Gefäßbündelelementen bei der annuellen Art ein.

Mark: große Parenchymzellen, in den peripheren Partien getüpfelte Membranen aufweisend; Zerreißen der Markzellen bewirkt oft Hohlwerden älterer Stengel.

Stärke oder Kristalle: fehlen in den Zellen des Stengels.

Sekretbehälter: fehlen.

**2. Die Zweige annueller Arten.**

Im wesentlichen mit den Hauptstengeln übereinstimmender anatomischer Bau.

**3. Stengelbau perenner Arten.**

Epidermis der annuellen Stengel ersetzt durch wenigzelliges Periderm = Phloem; in den innern Partien des chlorophyllfreien Rindenparenchyms: Bastfaserbündel; im Xylem nicht immer scharf abgegrenzte Jahresringe; das Mark verholzt. Wettstein[9]) konnte, bei dem ältesten ihm zur Verfügung stehenden Stammstück einer perennen Euphrasia, (E. andicola), 5 Jahresringe zählen.

**4. Die Blätter.**

a. **Querschnitt.** Obere Epidermis: buchtig-wellige Zellen mit starken, knotig-verdickten Außenwänden (häufig mit Anthocyan); Spaltöffnungen vorhanden.

Mesophyll: aus rundlichen oder tangential gestreckten Zellen bestehend; deutlich differenziert in ein Palisadengewebe und in ein Schwammparenchym.

Palisadengewebe: ein- bis zweischichtig.

Schwammparenchym: mit mäßig großen Interzellularen.

Gefäßbündel: mit der Zahl der Blattzähne übereinstimmend, an den Blattunterseiten stark hervortretend. Unter den Gefäßbündeln: mächtige, chlorophyllfreie oder chlorophyllarme Parenchymschichten, sonst alle Teile des Mesophylls intensiv grün.

Untere Epidermis: farblose Zellen; zahlreiche Spaltöffnungen, deren Schließzellen an den Blatträndern und in der Nähe der Gefäßbündel liegen.

b. **Flächenansicht.** Im Mesophyll auftretende Ansammlungen von Drüsenhaaren und in deren Nähe stets Tracheen.

Stärke: im Mesophyll nur in den an die Gefäßbündel anstoßenden Teilen.

Von großem Interesse und für die Systematik bedeutungsvoll ist das mannigfaltige Auftreten von Trichomen an den Blättern der meisten Euphrasia-Arten. Besonders auffallend ist der Wechsel im Grade der Ausbildung dieser Trichome. Wettstein[9]) äußert sich folgendermaßen darüber:

> „Eine und dieselbe Art (z. B. Euphrasia Salisburgensis, E. stricta, E. minima u. a.) erscheint bald an den genannten Stellen behaart, bald haarlos. Analog sind oft die Unterschiede zwischen nahe verwandten Arten. Untersucht man nun in solchen Fällen die betreffenden Stellen bei den haarlos erscheinenden Individuen oder Arten, so findet man, daß sie nicht wirklich haarlos sind, sondern daß die Trichome nur reduziert sind. (Wechsel der Behaarung bei denselben Arten in Folge verschiedener Standortsverhältnisse.)"

Bau und Einteilung der Trichome. Ein- oder mehrzellig; Außenmembranen in der Regel mit warzigen Verdickungen. Die einzelligen, hackig gebogenen Trichome sind verkalkt. Bei den mehrzelligen Trichomen treten die Scheidewände immer senkrecht zur Längsrichtung auf.

Einteilung: a. Nicht drüsige Haare.
b. Drüsenhaare = Köpfchenhaare.

a. Nicht drüsige Haare: gegen das Ende verschmälert; an allen Teilen des Blattes beobachtet.

b. Drüsenhaare: in 3 Formen vorkommend.

1. Gelegentlich an allen Teilen der Blätter: langgestielte Köpfchenhaare. Sie bestehen aus einem ein- bis fünfzelligen Stiele mit Querwänden, die senkrecht zu der Längsrichtung des Trichomes stehen und aus einem rundlichen zweizelligen Köpfchen. Die Stielzellen sind reich an farblosem Zellsaft, die Köpfchenzellen sind dicht mit körnigem, oft braun- oder gelbgefärbtem Inhalt erfüllt.

2. Die zweite Form der Drüsenhaare gleicht der oben besprochenen. Das Köpfchen ist ebenso gebaut, der Stiel ist aber sehr kurz und stets einzellig. Diese Haare treten nur sehr wenig über die Blattfläche hervor. Die 3. Kategorie von Drüsenhaaren ist sehr eigentümlich geformt; sie erscheinen von der Fläche gesehen als relativ große hervorgewölbte Scheiben. Sie haben einen Bau, der jenem der 2. Art von Drüsenhaaren analog ist, nur ist hier die „Stielzelle" zu einer scheibenförmigen Breitenbildung geworden, während das Köpfchen einer plankonvexen Linse gleicht (Wettstein[9]).

Eine bestimmte physiologische Funktion dieser Drüsenhaare scheint sehr wahrscheinlich. Wettstein[9]) vermochte sich kein abschließendes Urteil über diese Frage zu bilden. Als wichtig erachtet er folgende Tatsachen: 1. Das Auftreten von Drüsenhaaren an bestimmten Stellen der Blätter. 2. Das frühe Erscheinen der Trichome auf den jungen Blättern. 3. Die zahlreichen Tracheen, die das unter den Trichomen liegende Mesophyll durchziehen. 4. Das Vorhandensein großer Kristalle oder Kristallaggregate von $CaCO_3$ zwischen den Trichomen (oberflächlich der Blattepidermis und den Haaren anliegend).

**5. Der Kelch.**

a. **Kelchrand.** Hier finden sich dieselben Haarformen wie bei den Blättern (nicht drüsige und Drüsenhaare).

b. **Kelchfläche.** Sie weist absolut keine Drüsenhaare auf; an deren Stelle: ein- bis dreizellige, warzige, teils gebogene Haare.

**6. Die Blüte.**

a. **Kronblätter.** Epithelzellen sind papillös vorgewölbt. Die Kronblätter tragen an der Außenseite ein- bis dreizellige, spitze, farblose Haare; sind die Haare zwei- oder dreizellig, so ist die Basalzelle sehr kurz und dick, die Endzelle dünner, länger und gebogen.[12])

An der Oberlippe sind die Trichome immer mehrzellig und drüsenlos.

Auf der Unterlippe lassen sich neben steifen, drüsenlosen Haaren sehr kurzgestielte Drüsenhaare erkennen.

b. **Kronröhre.** Dieselben steifen, drüsenlosen Haare wie an der Unterlippe, mit dem Unterschied, daß sie hier nach abwärts gerichtet sind.

c. **Blütenschlund.** An seinen Wänden sitzen einzellige Haare von walziger Gestalt und keulig verdickten Enden.

d. **Staubfäden** und **Fruchtknoten** sind kahl.

e. **Griffel.** Einzelne Zellen des Griffels sind in einzellige Papillenhaare ausgewachsen. [12])

f. **Nectarium.** Mächtiges Nährgewebe, in großer Menge Aleuronkörner enthaltend, ferner fettes Oel. Testa: sie weist 8 bis 14 längsverlaufende, weiße, häutige Ränder auf; diese bestehen aus großen, lufthaltigen Zellen mit stark porösen Membranen.

Zum Abschluß dieser Uebersicht sei kurz auf die Frage eingetreten, ob der anatomische Bau systematische, d. h. phylogenetische Beziehungen der Formen zueinander aufdeckt.

> „Wenn ich hierbei", schreibt Wettstein[9]), „von dem Auftreten und der Beschaffenheit der Trichome, die für die Systematik wichtig sind, absehe, muß ich diese Frage, soweit sie auf die Gattung Euphrasia Bezug hat, mit nein beantworten. Es hängt dies mit dem außerordentlich einheitlichen Bau der Arten dieser Gattung zusammen, der bewirkt, daß selbst durchaus unähnliche, also gewiß nicht nahe verwandte Arten fast ganz gleichen anatomischen Aufbau besitzen."

Wettstein[9]) hat zur Abklärung dieser Verhältnisse speziell einheimische Arten untersucht (Euphrasia Rostkoviana, E. stricta, E. minima, E. Salisburgensis, E. pulchella und E. hirtella). Er fand,

> „daß die Verschiedenheit im anatomischen Bau, welche der Standort bei einer Art hervorruft, viel größer sein können, als die Unterschiede zwischen verschiedenen Arten."

So untersuchte er beispielsweise an ganz analogen Stellen den Stengelbau von Euphrasia Rostkoviana, E. stricta und E. Salisburgensis; der einzige Unterschied besteht darin, daß bei E. Rostkoviana und E. Salisburgensis die Markzellen etwas stärker poröse Membranen besitzen, als bei E. stricta. Der Autor glaubte ferner einen Unterschied darin zu finden, daß das Xylem bei E. stricta 6- bis 8-schichtig, bei E. Rostkoviana 8- bis 12-, bei E. Salisburgensis 4- bis 8-schichtig sich erwies, als er Exemplare vom selben Standorte untersuchte. Die Unmöglichkeit der Verwertung

dieser Unterschiede zeigte sich aber, als er Exemplare von verschiedenen Standorten verwendete (steinige, sonnige und feuchte, schattige Stellen):

„auffallende Differenzierung in der Mächtigkeit des Xylems und des Rindenparenchyms in der Konfiguration des Markes; beim ersteren Epidermiszellen durch Anthocyan gefärbt, beim letzteren wiesen nur einzelne Oberhautzellen diesen Farbstoff auf."

Wettstein[9]) betont am Ende seiner vergleichenden Studien, daß eine so große Differenzierung, wie sie hier bei Exemplaren derselben Species auftreten, zwischen analogen Exemplaren verschiedener Arten nicht gefunden werden konnten.

---

## 4. Chemie.

In der Einleitung wurde bereits auf Arbeiten und deren Autoren hingewiesen, die den Augentrost als Gegenstand einer chemischen Untersuchung gewählt hatten.

Im Jahre 1859 veröffentlichte J. B. Enz[1]) als Erster seine, bei der chemischen Untersuchung von Euphrasia officinalis gewonnenen Ergebnisse. Einleitend befaßt er sich in seiner Arbeit mit der Herkunft des Namens und dem Vorkommen der Pflanze; er macht überdies einige Angaben über ihre Verwendung und Wirkung.

Zur chemischen Analyse verwendete Enz[1]) das frische, blühende Kraut von Euphrasia. Er stellte ein wässeriges Mazerat her, das er der Destillation unterwarf. Das Destillat war klar, farblos und neutral, sein Geruch ähnlich dem der Stachys recta. Durch Ausschütteln des Destillats mit Aether und Verdunstenlassen desselben an der Luft wurde ein geringer Rückstand gewonnen, der den typischen Euphrasia-Geruch besaß. Bleiessig erzeugte in diesem Rückstand Trübung, die auf Zusatz von Essigsäure verschwand. Der verbliebene Anteil aus der Aether-Ausschüttelung war trübe geworden und wurde filtriert; das Filtrat war sauer, von gelbgrüner Farbe. Enz[1]) prüfte nun dieses Filtrat anhand verschiedener Reagenzien; die Hauptmenge behandelte er danach mit Bleiacetat und Bleiessig, wobei letzterer einen zitronengelben, der Bleizucker einen zeisiggrünen Niederschlag erzeugte.

Nach der Zersetzung des Bleizucker-Niederschlags mit Schwefelwasserstoff und Entfernung des entstandenen Bleisulfids wurde das saure Filtrat mit Natriumbikarbonat gesättigt und zur Trockne verdampft. Der Trockenrückstand löste sich größtenteils in Alkohol; diese Lösung enthielt nach den Angaben von Enz[1]) folgende

Bestandteile: Scharfe Materie, Bitterstoff, roter Farbstoff, gelber Farbstoff, eisengrünende Gerbsäure, Weinsäure, Zitronensäure, Salzsäure, Phosphorsäure.

Der Bleiessig-Niederschlag lieferte nach seiner Entbleiung eine saure, nicht bittere Flüssigkeit, die negative Reaktionen auf Gerbstoff zeigte.

Durch Uebersättigung mit Ammoniak erzeugte Enz[1]) in der vom Bleizucker-Niederschlag abfiltrierten Flüssigkeit eine zitronengelbe Fällung, die er mit Schwefelwasserstoff zerlegte. Das gelbe, saure Filtrat enthielt außer den schon gefundenen anorganischen Säuren Gummi und Zucker.

Der nun folgende Gang der Analyse bestand darin, daß Enz[1]) zuvor die trockene Droge mit Alkohol extrahierte (Digestion) und nach dem Abdestillieren desselben den Rückstand — eine fettglänzende, balsamisch riechende Masse — mit Wasser digerierte. Dabei blieben das Gemenge einer wachsartigen und ölig-fetten Materie, Chlorophyll und Harz ungelöst. Die wässerige Lösung war braungelb, bitter und sauer. Sie wurde filtriert und ein Teil des Filtrats mit gewaschener Bierhefe versetzt, wodurch träge Gärung eintrat und sich ein eigentümlich riechendes Fermentöl bildete.

> „Nach deren Beendigung", schreibt Enz[1]), „erhielt man durch Verdunsten der von der Hefe wieder befreiten Flüssigkeit einen hygroskopischen braunen Rückstand, in welchem nach mehreren Tagen Andeutungen von sternförmigen Kristallen wahrgenommen wurden, die bei näherer Untersuchung alle Eigenschaften des Mannits hatten. Die braune Masse besaß einen bittern und salzigen Geschmack."

Die ursprüngliche Alkohol-Tinktur zeigte nach dem Verdunsten hygroskopischen und zum Teil kristallinen Charakter. Aether entzog dieser Masse die folgenden Bestandteile: Eisengrünende Gerbsäure, Essigsäure, Milchsäure, Kali- und Kalksalze, wachsartige und ölige fette Materie, aetherisches Oel, Chlorophyll, eine kaum scharfe, nicht bitter schmeckende Materie.

Die mit Alkohol vorbehandelte Droge wurde nun anschließend mit heißem Wasser digeriert. Die abgepreßte, weingelbe Lösung war schwach sauer und gab mit Eisenchlorid eine grünliche Färbung.

Enz[1]) versuchte sodann Klarheit darüber zu schaffen, ob Euphrasia officinalis eine ihr eigentümliche „Euphrastannsäure" enthalte, oder ob ihre Gerbsäure mit einer von den schon bekannten anderer Pflanzen übereinstimme. Zu diesem Zwecke wurde die frische Droge mit Wasser mazeriert und gekocht, der Auszug filtriert und im erkalteten Filtrat mit Bleiazetat gefällt. Zur Entfernung des beigemengten schwefelsauren und phosphorsauren Bleioxyds löste Enz[1]) den ausgewaschenen Niederschlag in Essigsäure, filtrierte die Lösung und neutralisierte sie mit Ammoniak. Dadurch entstand wieder der grüne Niederschlag, der nun gewa-

schen, getrocknet, fein zerrieben und während einigen Stunden einer Temperatur von 110° C ausgesetzt wurde. Für diese Bleiverbindung der Euphrasia-Gerbsäure berechnete Enz[1]) aus seinen Analysen die Formel: $C_{32}H_{20}O_{17} . 3\,PbO$. (Vergl. Husemann[15])).

Enz[1]) stellte schließlich mit stark verdünnter Salzsäure aus dem verbliebenen, mit Alkohol und Wasser vorbehandelten Drogenpulver durch Digestion ein Extrakt her. Dieses wies keine bemerkenswerten Eigenschaften auf. Nach dem Abdampfen desselben verblieb eine humusartige Masse, die ihre Entstehung offenbar der Säure selber verdankte.

Was diese qualitative Untersuchung von Enz[1]) anbelangt, vermißt man an bestimmten Stellen genaue Angaben über die angewandten Methoden und Reaktionen, die zur Ermittlung der von ihm aufgefundenen Substanzen führten. So erfährt man beispielsweise nicht, wie der angeblich vorkommende Mannit identifiziert wurde. Enz[1]) teilt ferner mit, daß der in der Pflanze vorhandene Bitterstoff nicht zu den basischen Körpern gehört, sondern sich den Säuren anschließt; doch fehlen auch hier nähere Erläuterungen.

In quantitativer Hinsicht erzielte Enz[1]) bei der Extraktion des Krautes folgende Werte: Aetherischer Auszug: 4,4% Trockenrückstand, Weingeistiger Auszug: 12%, Wässeriger Auszug: 6,4%, Salzsaurer Auszug (in Gummisubstanzen umgewandelte Materie): 4,4%, Pflanzenfaser: 10,8%, Wasser: 62%.

Von besonderem Interesse ist das erst später bei Euphrasia beobachtete Vorkommen eines Chromogens, dessen Verhalten am ehesten demjenigen eines Körpers glykosidischer Natur entspricht. Wird nämlich das frische Kraut der Pflanze, ein wässeriger oder alkoholischer Auszug aus demselben oder aus der getrockneten Droge mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure (5—10%) erhitzt, so tritt eine intensive Blaufärbung der Extraktlösung auf. Der so entstehende blaue oder blaugrüne Farbstoff ist von Indigo sehr verschieden. Aus diesem Grunde schlug Molisch[16]) vor, Pflanzen bei denen postmortal aus einem Chromogen ein blauer Farbstoff unbekannter Natur entsteht vorläufig als Pseudoindikanpflanzen den Indigopflanzen gegenüberzustellen.[17]) [18])

Es sind zahlreiche Gewächse besonders aus der Familie der Scrophulariaceae und Rubiaceae bekannt, die bei analoger Behandlung einen ähnlichen, vielleicht verwandten oder denselben Farbstoff liefern, so z. B. Rhinanthus Crista galli (Scrophulariaceae - Rhinanthaceae), Lathraea Squamaria (Scrophulariaceae - Orobanchaceae), Utricularia vulgaris (Lentibulariaceae), Monotropa hypopitys (Pyrolaceae), ferner Galium mollugo aus der Familie der Rubiaceae.

Es fehlte nicht an Versuchen, die chemische Zusammensetzung des bei Euphrasia in Frage stehenden Chromogens oder Chromoglykosids zu ermitteln. Bei Untersuchung der ganzen Pflanze hat M. Braecke[19]) nach der Methode von Bourquelot die Gegenwart eines durch Emulsin spaltbaren Glykosids nachgewiesen. Die Vermutung wurde ausgesprochen, es könnte sich dabei um Aucubin handeln.

(„L'hydrolyse du glucoside a été accompagnée d'une coloration noire très intense de la liqueur et de la formation d'un précipité noir grumeleux, caractères qui permettent de prévoir que le glucoside à isoler pourrait être de l'aucubine.")

Mit Rhinanthin wird ein Glykosid bezeichnet, dessen Vorkommen bei den Rhinanthaceen häufig beobachtet oder vermutet wurde.[20]) G. Ludwig[21]) hat im Jahre 1868 das Glykosid zuerst in den Melampyrumkörnern und in den Samen von Rhinanthus hirsutus All. aufgefunden. Später erwies es sich als identisch mit Aucubin, das im Jahre 1902 von Bourquelot und Hérissey[22]) aus den Samen von Aucuba japonica (Cornaceae) isoliert wurde[18]). Zur Gewinnung von Aucubin eignen sich vorteilhaft die Samen von Plantago lanceolata. Der Gang der Darstellung wird bei Klein[23]) wie folgt beschrieben:

„2 kg Samen wurden bald nach der Reife möglichst fein gemahlen und sofort mit etwas kohlensaurem Calcium gemischt in 6 lt. siedenden 90%igen Alkohol eingetragen. Nach ¾-stündigem Sieden wurde filtriert, der Rückstand noch hydraulisch ausgepreßt und die vereinigten alkoholischen Flüssigkeiten unter Zusatz von $CaCO_3$ unter geringem Druck möglichst weit eingedampft. Der Rückstand gab mit 2 lt. Wasser eine sämig-dicke, fettreiche Flüssigkeit. Sie wurde mit einer starken Lösung von essigsaurem Blei so lange versetzt, als noch ein Niederschlag entstand, dann filtriert, gründlich nachgewaschen, aus dem Filtrat nebst Waschwassern das Blei durch $H_2S$ gefällt und wiederum vom PbS filtriert. Auch jetzt mußte wieder gründlich nachgewaschen werden, weil die Bleiniederschläge leicht erhebliche Aucubinmengen adsorbieren. Nun waren die aucubinhaltigen Filtrate ganz klar, aber noch hellgelb gefärbt. Um aus ihnen das Aucubin herauszuholen, wurden sie unter Zusatz von $CaCO_3$ unter geringem Druck zum dicken Syrup verdampft, dieser mit viel feinkörnigem Sand verrieben und dann im Soxhlet-Apparat mit reinem Essigesther, dem 5% Alkohol zugesetzt war, einige Stunden extrahiert. Im Extraktionskolben begann bei gut verlaufener Operation bald die Kristallisation des Aucubins, dessen Menge bei nicht zu alten Samen etwa 20 g (= 1%) betrug. Das Aucubin war noch etwas braun gefärbt und wurde durch wiederholte Kristallisation aus Alkohol von 85% leicht farblos und ganz rein erhalten."

Aucubin kristallisiert in feinen, bisweilen rosettenförmig angeordneten, weißen Nadeln oder Prismen. Die reine Substanz ist von bittersüßem Geschmack. Der Smp. des wasserfreien Glykosids liegt bei 181°. Es ist linksdrehend. Aucubin ist leicht löslich in Wasser und Weingeist. Bei der Hydrolyse dieser Lösungen mit verdünnten Säuren (HCl oder $H_2SO_4$) oder Emulsion erfolgt, neben Zucker, Ab-

scheidung eines blauen oder schwarzen, amorphen Farbstoffes, wobei es sich um Aucubigenin, Rhinanthocyan oder Rhinanthogenin [24]), dem zugehörigen Aglukon, handelt. Gleiches Verhalten zeigen die Chromoglykoside Montropein und Meliathin. Der entstehende Farbstoff kann mit Amylalkohol oder Chloroform ausgeschüttelt werden.

Für Aucubin findet sich bei Klein [23]) die Formel $C_{15}H_{24}O_9$. Daneben existieren Angaben, die von der genannten abweichen; die jüngsten (1927/28) bei Wehmer [25]) erwähnt, lauten: $C_{15}H_{24}O_{10}$ = $C_{15}H_{22}O_9 . H_2O$ oder $C_{15}H_{24}O_9 . H_2O$ oder $C_{15}H_{19}O_8 . H_2O$; für das Rhinanthin wurde früher rund das Doppelte angegeben ($C_{29}H_{52}O_{20}$ oder $C_{32}H_{56}O_{20}$).

Die wässerige Aucubinlösung verbraucht 4 Atome Brom. Die Hydrierung von Aucubin geschieht in Gegenwart von Palladium-Mohr oder mit Natronlauge neutralisierter Platinchloridlösung und liefert Tetra-hydro-desoxy-aucubigenin, wobei es die Eigenschaft, dunkle Zersetzungsprodukte abzuspalten, verliert. Außer dem Hydrierprodukte entstehen ein aromatisch riechendes Oel und Glukose. (S. Spez. Teil, die katalytische Mikrohydrierung des Chromogens, S. 75).

Auf eigenartige Dissoziations-Erscheinungen von Aucubin-Lösungen weisen M. Bergmann und G. Michalis [26]) hin. Dieselben Autoren stellten mit Essigsäureanhydrid in Gegenwart von Pyridin die Acetylverbindung des Aucubins her. Dieser Körper schmilzt bei 128° und hat die Formel $C_{15}H_{16}O_9$ $(CO . CH_3)6$. In methylalkoholischer Lösung nimmt er Brom in komplexer Reaktion auf; es entstehen dabei 2 isomere Bromide.

Reaktionen mit Aucubin: 1. mit $FeCl_3$ weder in wässeriger noch alkoholischer Lösung eine Färbung. 2. Ammoniakalische Bleiacetatlösung erzeugt farblose, voluminöse Niederschläge. 3. Bromwasser wird augenblicklich entfärbt. 4. Eine wässerige Aucubinlösung gibt beim Unterschichten mit $H_2SO_4$ conc. einen braunen Ring. 5. Versetzt man die nicht zu konzentrierte Aucubinlösung erst mit Bromwasser bis zur bleibenden Gelbfärbung, kocht dann den Ueberschuß des Halogens weg und unterschichtet in der Kälte mit $H_2SO_4$ conc., so erhält man einen braunroten Ring, der nach oben carminrot ausläuft.

---

Angesichts der Tatsache, daß keine befriedigenden oder vollständigen Angaben über die Inhaltsstoffe von Euphrasia existierten, führten Melton und Sayre [4]) eine „unmittelbare Analyse" der Droge durch. Es handelt sich um eine Arbeit, die vorwiegend orientierenden Charakter trägt; von einigem Interesse dürften deren quantitative Ergebnisse sein.

Was die Literatur über die medizinischen Eigenschaften, die Darreichungsform und Dosierung von Euphrasia betrifft, verweisen die Verfasser eingangs auf „King's American Dispensatory, third revision, page 751" und geben die diesbezüglichen Angaben auszugsweise wieder. Neu für uns dürfte darin lediglich der Hinweis sein, daß ein Fluidextrakt der Droge mit Erfolg bei der Heilung von Epilepsie verwendet werde.

In der darauffolgenden Beschreibung der Pflanze wird gesagt, daß die in den U. S. A. vorkommenden Euphrasia-Arten nicht nur zahlreich sind, sondern sich auch durch große Verschiedenheit in der Blütenfärbung auszeichnen; auch soll, verglichen mit der europäischen, die „Euphrasia Americana" eine relativ große und ansehnliche Krone tragen. Auffallend erscheinen demgemäß bei den aus Europa importierten Exemplaren die weißen Kronen einiger Species und auch ihr gelber Schlundfleck („yellow eye").

Das im Handel befindliche Drogenpulver wurde von Melton und Sayre[4]) mikroskopisch untersucht und als stark verunreinigt befunden. Dies rührt offenbar daher, daß beim Sammeln der relativ kleinen Pflanze Unreinigkeiten beigemengt werden. Das mikroskopische Bild des Pulvers, bestehend aus Blätter, Stengel, Blüten und Samen der Pflanze, ist im Text wiedergegeben. Die Bastfasern des Stengels, die Trichome und das Epidermisgewebe der Blätter treten darauf deutlich hervor.

Im chemischen Teil der Arbeit wird zuvor auf eine Analyse im „King's Dispensatory" verwiesen, in der u. a. gesagt wird, daß gewöhnlich die frischen Blätter der Pflanze Verwendung finden und daß Wasser ihnen ihre wirksamen Bestandteile zu entziehen vermag. Sodann werden die Stoffe aufgezählt, die Enz[1]) 1859 aus der frischen Pflanze isolierte.

Die gepulverte Droge wurde von Melton und Sayre[4]) der Einwirkung verschiedener Lösungsmittel unterzogen. Es wird bereits zu Beginn betont, daß sich unter den Bestandteilen der Droge einer mit ausgesprochen harzartigem Charakter befinde. Er soll teils in Aether, teils in Alkohol löslich sein, woraus die Verfasser schließen, daß er uneinheitlich ist.

Eine vorgängige mikroskopische Untersuchung des luftgetrockneten alkoholischen Auszugs verriet das Vorhandensein zahlreicher Oeltröpfchen.

Die Autoren vermuten, die Pflanze enthalte geringe Mengen eines Alkaloids, betonen aber, daß es einer sorgfältigeren Analyse bedürfe, um darüber ein eindeutiges Urteil fällen zu können.

Der Durchschnittswert von 4 Stickstoffbestimmungen lag für dieses Element bei 1,633 %; der Gehalt an Tannin soll 1,841 % betragen.

Ein Wasserdampfdestillat wurde mit Aether ausgeschüttelt, der Verdunstungsrückstand der Ausschüttelung in Alkohol gelöst und in eine kleine Menge destillierten Wassers gegossen. Diese Lösung erzeugte auf der Zunge ein ausgesprochen stechendes Gefühl.

Melton und Sayre[4]) will es ferner scheinen, die Droge enthalte sublimierbare Substanzen; Zeitmangel verhinderte die Beiden am Eintreten auf eine solche Prüfung, doch betonen sie in ihrer Arbeit, daß eine ausgedehnte Untersuchung der Droge in dieser Richtung von großem Interesse wäre.

Es wurden ferner Werte ermittelt für den Feuchtigkeitsgehalt (I), die Asche (II) u. a. (Die im Text vorkommenden römischen Ziffern und die Buchstaben A. B. usw. beziehen sich auf die Tabelle Seite 27. Diese enthält die von Melton und Sayre[4]) gefundenen Durchschnittswerte aus je 4 quantitativen Bestimmungen).

Das Aether-Extrakt (III). Die gepulverte Droge wurde während 10 Stunden im Soxhlet extrahiert, danach der Aether abdestilliert und das Extrakt gewogen. Letzteres wurde darauf mit Wasser behandelt, auf 100° erhitzt und bei 110° getrocknet. Der Gewichtsverlust wurde als „flüchtiges Oel" gewertet (A).

Zur Bestimmung von nicht flüchtigem Oel wurde dann das Extrakt mit kleinen Mengen Petrolaether ausgezogen und so der Anteil an fettem Oel quantitativ ermittelt (B).

Das verbliebene Aether-Extrakt wurde während 10 Stunden mit Alkohol 80 % mazeriert und ein Teil des Mazerats nach dem Trocknen als „Alkohol. Extrakt aus dem Aetherextrakt-Rückstand" bezeichnet (C).

Der übrige Teil dieses alkoholischen Auszugs wurde auf ein kleines Quantum eingeengt und in destilliertes Wasser gegossen. Es entstand ein Niederschlag, der gesammelt und gewogen und als „harziger Bestandteil aus dem Aether-Extrakt" betrachtet wurde (D).

Der Rest aus dem mit Wasser, Petrolaether und 80 %-igem Alkohol vorbehandelten Aether-Extrakt wurde als Wachs angesehen. Er war dunkelgrün, geschmacklos, unlöslich in Wasser, teilweise löslich in Aether und beinahe völlig löslich in Alkohol (E).

Zur Frage nach dem Vorhandensein von Alkaloiden (F) verwendeten Melton und Sayre[4]) das alkoholische und von Harz befreite Filtrat von (D). Ein Tropfen desselben, versehen mit einem Tropfen verdünnter Schwefelsäure, gab mit einem Tropfen Mayer's Reagens einen sofortigen weißen Niederschlag. Dasselbe Ergebnis erzielten sie bei gleichem Vorgehen mit Wagner's Reagens. Unter

dem Mikroskop zeigten sich im eingeengten Filtrat zerstreut kleine, amorphe Teilchen. Diese Lösung soll auf der Zunge starke Gefühllosigkeit erzeugt haben, die über eine halbe Stunde anhielt.

Aus dem mit Aether vorextrahierten Drogenpulver wurde nun nach der Soxhlet-Methode mit 80 %-igem Alkohol ein Auszug (IV) bereitet und in einer Probe desselben die Menge der Extrakt-Stoffe bestimmt. Das Fluidextrakt wurde stark eingeengt und in 20 Teile Wasser gegossen. Der dabei entstandene Niederschlag wurde als „harziger Bestandteil aus dem Alkoholextrakt" bezeichnet. (A). In der überstehenden, filtrierten Lösung wurde mit Bleiacetat gefällt und die Fällung in einem Schmelztiegel bis zur Gewichtskonstanz verascht. Nach Melton und Sayre[4]) bedeutet die Gewichtsdifferenz zwischen Fällung und Asche die Menge der mit Bleiacetat fällbaren organischen Säuren (B). Einem Teil des Filtrats aus (B) wurde sodann Bleiessig zugefügt und vom entstandenen Niederschlag abfiltriert. Im entbleiten und neutralisierten Filtrat führten Melton und Sayre[4]) mit Fehling'scher Lösung eine quantitative Zuckerbestimmung durch (C).

Die verbliebene Filtratmenge aus (B) wurde mit Schwefelwasserstoff entbleit, die Lösung in Wasserbad abgedampft, der Rückstand getrocknet und gewogen. Durch Subtraktion der Zuckermenge von obigem Gewicht ermittelten die Autoren die Menge des als „Residual Extractive" bezeichneten Anteils (D). Offenbar wurde nun dieser auf den eventuellen Gehalt an Alkaloiden geprüft; denn es wird lediglich bemerkt, daß Mayer's und Wagner's Reagens unbefriedigende Ergebnisse zeitigten.

Die Herstellung eines wässerigen Extrakts (V) aus der vorbehandelten Droge erfolgte durch 12-stündige Mazeration. 50 ccm des filtrierten Mazerats wurden im Wasserbad auf 25 ccm eingeengt und 50 ccm absoluter Alkohol hinzugefügt. In der Kälte schied sich allmählich in dieser Mischung Gummisubstanz aus (A). Als Eiweiß-Materie (B) wurden die in obiger Mischung verbliebenen und durch Verdampfen trocken erhaltenen Extraktstoffe erachtet.

Die mit Aether, Alkohol und Wasser vorextrahierte Droge wurde nun mit Wasser, das 1-Vol.% konz. Schwefelsäure (spez. Gew. 1,84) enthielt, während 3 Stunden am Rückflußkühler erhitzt (VI). In der Voraussetzung durch diese Behandlung seien die vorhandene Stärke und ihr verwandte Körper hydrolysiert worden, bezeichneten die Verfasser das so gewonnene Trockenextrakt als dasjenige der „reduzierenden Substanzen".

Analog dem vorangegangenen stellten sie sodann einen Auszug mit Wasser her, dem 2%-ige NaOH-Lösung zugesetzt war (2,0 gr der Lösung auf 100 ccm Wasser). Auf gewohnte Weise ermittelten sie die Menge extrahierter Substanz (VII).

Die Bestimmung des Gehalts an Zellulose geschah so, indem die verbliebene Drogenmenge zuvor mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen, darauf getrocknet und gewogen und schließlich verascht wurde. Das Gewicht der Asche subtrahiert von demjenigen der Drogenmenge ergab den gesuchten Wert (VIII). Die Asche wird als unlöslicher Rückstand bezeichnet (A). Sie müßte prozentual den gleichen Wert aufweisen wie die eingangs bestimmte in Salzsäure und Natronlauge unlösliche Asche (II). Melton und Sayre[4]) vermuten die Differenz von 0,284 % rühre von der Bildung eines löslichen Chlorids her, das nur bei der Bestimmung (II) entstehen konnte.

Die Stickstoff-Bestimmung (IX) erfolgte nach der von Dyer modifizierten Kjeldahl-Methode.

Um zu erfahren, wie hoch der Gerbstoffgehalt sei, wurde eine bestimmte Menge gepulverte und mit Petrolaether vorbehandelte Droge in Wasser mazeriert. Im filtrierten Mazerat wurde mit einer 2 %-igen Strychninazetat-Lösung der Gerbstoff ausgefällt. Die Bestimmung erfolgte durch Multiplikation des Gewichts der Fällung mit dem Faktor 0,6558 (X).

Melton und Sayre[4]) stellten sodann durch mehrtägige Mazeration der Droge einen direkten Auszug mit 95 %-igem Alkohol her (XI). Das erhaltene Trockenextrakt wurde nach der Wägung in möglichst wenig Alkohol wiederum gelöst und diese Lösung unter Umrühren in 2 %-ige Salzsäure gegossen. Der dabei entstandene Niederschlag wurde getrocknet und gewogen und als ein mittels Salzsäure fällbarer Harzstoff angesehen (A). Er war leicht löslich in Chloroform, teilweise löslich in Aether und Alkohol. — Das Filtrat von (A) lieferte nach dem Verdampfen eine schwarzbraune, klebrige Substanz, die wiederum getrocknet und gewogen wurde. Sie erwies sich als löslich in Wasser, unlöslich in Chloroform, teilweise löslich in Aether und völlig löslich in Alkohol (B).

Es scheint, daß Melton und Sayre[4]) ihr Interesse besonders auf die der Pflanze eigentümlichen Harzstoffe richteten (XII). Sie fanden, daß beim Einbringen eines konzentrierten alkoholischen Auszugs in Wasser ein harzartiger Niederschlag entsteht. Zur genauern Charakterisierung desselben führten sie eine fraktionierte Fällung in 4 Stufen durch, trennten die einzelnen Niederschläge ab und stellten nach dem Trocknen ihr Gewicht fest. Abgesehen von diesen höchst empirischen Werten begnügten sie sich mit den Angaben über die Löslichkeiten der 4 Körper. Dabei war der erste aetherlöslich und beinahe alkoholunlöslich, wogegen beim zweiten das umgekehrte der Fall war; die dritte und vierte Fällung waren wiederum nur alkohollöslich.

Zur Isolierung flüchtiger Materie diente, wie bereits erwähnt, eine Wasserdampfdestillation, die Melton und Sayre[4]) mit 10 gr in Wasser aufgeschwemmter Droge vornahmen; das aufgefangene Destillat schüttelten sie mit Aether aus und wogen nach dem Verdunsten des letztern den Rückstand (XIII).

Eine kleine Menge gepulverter Droge unterwarfen die beiden Amerikaner der Sublimation. Das Produkt wird als eine hellbraune, klebrige Substanz beschrieben, die beim Erkalten kristallin wurde. Sie war löslich in Wasser, Alkohol und Chloroform, beinahe unlöslich in Aether.

Zur Ermittlung des Gehalts an Fettstoffen verwendeten die Verfasser eine genau gewogene Menge der Droge, mazerierten sie mit Petrolaether und bestimmten nach dem Verdunsten desselben das Gewicht des Rückstandes.

Ein letzter Versuch sollte dazu dienen, Aufschluß über Gegenwart oder Abwesenheit von Alkaloiden zu erhalten. Zu diesem Zwecke versetzten Melton und Sayre[4]) eine bekannte Menge gepulverter Droge mit einer Mischung aus 20 Teilen Chloroform, 76 Teilen Alkohol und 4 Teilen Ammoniak. Nach 7-tägiger Mazeration wurde die überstehende Flüssigkeit dekantiert. Anschließend folgte eine 48-stündige Mazeration des vorextrahierten Drogenpulvers mit einer Mischung aus 68 Teilen Aether, 22 Teilen Chloroform, 7 Teilen Alkohol und 10 Teilen stärkerem Ammoniak. Die Auszüge wurden vereinigt und bei 50° bis zur Sirupkonsistenz eingedampft. Das Konzentrat wurde in Aether gelöst und diese Lösung in einem Scheidetrichter mehrmals mit kleinen Mengen 1%-iger Schwefelsäure ausgeschüttelt. Die vereinigten Ausschüttelungen waren gefärbt, ein Nachteil, den Melton und Sayre[4]) zuerst durch Waschen mit Chloroform und Aether zu beheben versuchten. Auf diese Art entzogen sie der Lösung nur sehr wenig Farbstoff. Ein günstigeres Resultat konnte erzielt werden, indem die saure Lösung mit Ammoniak zuvor alkalisch gemacht, mit Aether behandelt und dieser, nach Abtrennung, seinerseits mit 1%-iger Schwefelsäure ausgeschüttelt wurde. Diese saure und nahezu farblose Lösung wurde mit Mayer's Reagens auf Alkaloide geprüft. Die Ergebnisse waren folgende:

1. Versuch: zweifelhaft.
Nach 24-stündigem Stehenlassen: zweifelhaft.

2. Versuch mit der eingeengten sauren Lösung:
sehr geringer Niederschlag.
Nach 24-stündigem Stehenlassen: geringe Veränderung.

Die von Melton und Sayre[4]) erzielten quantitativen Ergebnisse sind auf nachstehender Uebersicht wiedergegeben; die Zahlen verstehen sich in Prozenten.

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Feuchtigkeitsgehalt, I** | | | 10,089 |
| **Asche,** II | | | 8,646 |
| | Asche: | Droge: | |
| In Wasser lösliche Asche | 28,336 | 2,450 | |
| Unlösliche Asche, löslich in Salzsäure | 47,592 | 4,115 | |
| In Salzsäure unlösliche Asche, löslich in Natronlauge | 10,629 | 0,919 | |
| Unlösliche Asche, Rückstand | 13,443 | 1,162 | |
| | 100,000 | 8,646 | |
| **Aether-Extrakt,** III | | | 10,120 |
| Aetherisches Oel III, A | | 0,162 | |
| Nicht flüchtiges Oel III, B | | 6,605 | |
| Alkohol. Extrakt aus dem Aether-Extrakt-Rückstand III, C | | 1,205 | |
| Harziger Bestandteil aus dem Aether-Extrakt III, D | | 0,515 | |
| Wachs III, E | | 0,872 | |
| | | 9,359 | |
| **Alkoholischer (80%)-Auszug,** IV der vorextr. Droge | | | 13,566 |
| Harziger Anteil aus dem Alkohol-Extrakt IV, A | | 0,504 | |
| Mit Bleiazetat fällbare org. Säuren, IV, B | | 4,131 | |
| Gehalt an Zucker (Glukose) IV, C | | 0,866 | |
| „Residual Extractive" IV, D | | 8,061 | |
| | | 13,562 | |
| **Wässeriger Auszug der vorextr. Droge,** V | | | 9,923 |
| Gummi-Substanz V, A | | 3,384 | |
| Eiweiß-Materie V, B | | 6,470 | |
| | | 9,854 | |
| **Schwefelsaurer Auszug der vorextr. Droge,** VI | | | 20,446 |
| Reduzierende Substanzen VI, A | | 9,684 | |
| **Auszug mit 2%-iger Natronlauge (vorextr. Droge),** VII | | | 20,500 |
| **Zellulose,** VIII | | | 14,090 |
| Unlösliche Asche VIII, A | | 1,446 | |
| **Stickstoff,** IX | | | 10,348 |
| **Gerbstoff,** X | | | 1,841 |
| **Direkter alkoholischer (95%)-Auszug,** XI | | | 13,323 |
| Mit Salzsäure fällbarer Harzstoff XI, A | | 4,300 | |
| Rückstand nach der Ausfällung XI, B | | 9,020 | |
| | | 13,320 | |
| **Harzstoffe,** XII | | | 2,6036 |
| Fraktionierte Fällung: 1. Ndg. | | 1,3648 | |
| 2. Ndg. | | 0,7476 | |
| 3. Ndg. | | 0,2608 | |
| 4. Ndg. | | 0,2304 | |
| | | 2,6036 | |
| **Flüchtige Materie,** XIII (Wasserdampfdestillation) | | | 0,024 |
| **Fettstoffe,** XIV (Petrolaether-Auszug) | | | 0,644 |
| **Alkaloide,** XV (siehe oben). | | | |

---

In einer Schlußbetrachtung stellen Melton und Sayre [4]) nochmals fest, daß sie mit ihrer Analyse den Zweck verfolgten, annähernd jene Wirkstoffe zu isolieren, die der Pflanze ihre therapeutischen Eigenschaften verleihen. Ihr Sitz, so will es Melton und

Sayre[4]) scheinen, dürfte in den harzartigen, aromatischen Substanzen der Pflanze zu suchen sein. Auf Grund ihrer Beobachtungen nehmen die Verfasser an, daß diese Harzstoffe nur mit einem alkoholischen, wässerig-alkoholischen oder ähnlich gearteten Lösungsmittel extrahierbar seien.

---

Zusammenfassend lassen sich folgende, aus den bisherigen chemischen Untersuchungen des Augentrosts hervorgegangene Inhaltsstoffe zitieren:

Gerbsäure, verschiedene organische Säuren (Weinsäure, Zitronensäure, Essigsäure, Milchsäure), Weichharz, roter und gelber Farbstoff, wachsartige und ölige, fette Stoffe, aetherisches Oel, Bitterstoff, „scharfer Stoff", gährungsfähiger Zucker, Mannit, Eiweiß, Gummi (Enz[1])); blauen Farbstoff lieferndes Chromogen glykosidischer Natur (Molisch[16])), nach Braecke[19]) wahrscheinlich Aucubin; nicht flüchtiges Oel, harzartige, aromatische Substanzen, mit Bleiazetat fällbare organische Säuren, reduzierende Substanzen (Melton und Sayre[4])).

---

### 5. Historisches. - Anwendung und Wirkung.

Euphrasia findet sich erstmals in den Schriften des griechischen Arztes Dioskurides aufgezeichnet. Im Altertum soll die Pflanze bereits zu Augenwässern verwendet worden sein. Diese äußerliche Art der Anwendung hat sich über das Mittelalter bis in die Gegenwart hinein erhalten.

> „Das Augentrost braucht man zu den dunckeln augen / vnd dem starn / zerstossen vnd darüber gelegt / oder in wein gesotten, oder den auhsgetruckten safft darinn gethon."

So steht im „New-Kreüterbüchlein" des Leonhart Fuchs[5]) geschrieben. Verwendung fand demnach die zerstoßene Pflanze, eine alkoholische Auskochung, oder der Preßsaft derselben. Dem Leidenden war es, so angewendet, „nützlich zu dem gesicht / welches klar und lauter würdt". Matthiolus (zitiert bei Sieg, H.[7]) bezeichnet die Pflanze in seinem Kräuterbuch ebenfalls als ein „Prinzipal zu den blöden und tunkeln Augen". Er empfiehlt, das frische Kraut unter die Kost zu mischen oder in Form des getrockneten Pulvers der Speise beizufügen. Bessern Erfolg noch verspreche das Wasser, das man daraus brennt. Zur Zeit der Weinlese aber könne man Wein aus Augentrost machen, indem man das Kraut mit dem Most einlegt und vergären läßt. Arnoldus de

nova villa (zitiert bei Sieg, H.[7]), ein „fürnemer doctor der artzny" berichtet, daß manche Leute, die lange Zeit nichts mehr gesehen haben und diesen Wein tranken, „wiederumb zu ihrem Gesicht" gekommen sind. An dieser Behauptung wird man mit Recht zweifeln, doch kann mit Sicherheit angenommen werden, daß sich das Heilkraut großer Beliebtheit erfreuen durfte. Bemerkenswert ist, daß der „Wein" des Augentrosts, auch innerlich genommen, das Sehvermögen angeblich zu stärken vermochte. Die Volksheilkunde macht bis heute von dieser Auffassung Gebrauch; denn sie empfiehlt, kranke Augen nicht nur mit Tee von Augentrost zu waschen, sondern gleichzeitig gepulvertes Kraut in Wasser, Milch oder Suppe einzunehmen.

Die „gesichtsstärkende" Wirkung unserer Droge wird auch von Pflanzenkundigen der Neuzeit hervorgehoben. So halten beispielsweise Flamm-Kröber[27]) Euphrasia angezeigt bei entzündlichen Erkrankungen der Augen, der Bindehäute mit schleimig-eitriger Sekretbildung, bei Lichtscheue, sowie bei geschwächter Sehkraft. Künzle verwendet bei solchen Augenleiden äußerlich und innerlich einen konservierten wässerig-alkoholischen Auszug von Herb. Euphrasiae. Das nach modernem Verfahren hergestellte Euphrasia-Dialysat Golaz (Zyma, Nyon) wird empfohlen gegen Entzündungen und Uebermüdung der Augen und bei Conjunktivitis.

Naturgemäß wird die Pflanze auch in Verbindung mit ähnlich wirkenden Kräutern verwendet. Fischer[8]) gibt eine Anweisung zur Herstellung einer Mazeration aus Augentrost, großem Wegerich, Fenchel und Rosenwasser.

Ueber die innerliche Anwendung des Heilkrauts weiß bereits Leonhart Fuchs[5]) zu berichten:

> „Es krefftiget auch die gedechtnuss / vnd widerbringt dieselbigen so man zu pulver stosst / vnd in weissem lautern wein jnnimpt. Es ist auch denen so die geelsucht haben seer dienstlich / so mans in wein seüdt / vnd warm trinckt."

Der Augentrost wird auch heute noch mit Kräutern genannt, die sich durch ihre gallenflußanregende Wirkung auszeichnen.[28])

Magenstärkende Eigenschaften werden der Pflanze seit dem Mittelalter zugeschrieben. Ihre Verwendung bei Magenerkältung und Magenbeschwerden ist bis auf den heutigen Tag erhalten geblieben. Wie die Aerzte des späten Mittelalters, preist auch Kneipp[29]) den Augentrost als ein vorzügliches Mittel zur Verbesserung der Magenkräfte und der Verdauung. Zu diesem Zweck soll das gepulverte Kraut messerspitzenweise in Wasser oder Suppe eingenommen oder ein Absud davon getrunken werden. Madaus[30]) empfiehlt Euphrasia gegen Hyperacidität und erachtet das Infus als geeignetes Stomachicum.

Es kann daher nicht wundern, daß die Pflanze für ähnliche Zwecke auch in neuzeitlichen Teemischungen Berücksichtigung gefunden hat. Typische Beispiele für solche Species finden sich bei Flamm-Kröber.[28])

Dem Augentrost wird außer den zwei beschriebenen eine dritte spezifische Heilwirkung bei sekretorischen Störungen der Nasen- und Rachenschleimhaut zugeschrieben. Schon im Mittelalter soll er gegen Schnupfen Verwendung gefunden haben[31]); er galt als Specificum gegen Raucher- und Trinkerkatarrh (Kranichfeld, zit. bei Clarus[32]) und soll selbst bei ausgesprochenem Husten nützliche Dienste geleistet haben.[33])

Unsere Heilpflanze wird demnach bei Krankheitsbildern verwendet, die auf den ersten Blick gegensätzlich anmuten, die aber doch bestimmte innere Zusammenhänge aufweisen. So hat die moderne Biologie u. a. gezeigt, daß Wechselbeziehungen zwischen sekretorischen Störungen der Nasen- und Rachenschleimhaut einerseits und Krankheitserscheinungen des Magen-Darmtrakts anderseits bestehen können. Es ist wohl denkbar, daß in diesem Sinn die Heilkraft von Euphrasia vom Volk instinktiv richtig erfaßt wurde.

Die allopathische Schule unterscheidet sich in der Anwendung des Augentrosts von der homöopathischen dadurch, daß sie das gut getrocknete (ganze, geschnittene oder gepulverte) Kraut verwendet; letztere stellt aus den frischen, oberirdischen Teilen eine Tinktur her.

Die therapeutische Leistungsfähigkeit des Augentrosts wurde einzig von der homöopathischen Schule geprüft. Eine genaue Beschreibung der Beobachtungen gibt Schulz[34]). Sie verdienen Beachtung und mögen der Vollständigkeit halber hier angeführt werden.

„Die aus dem frischen Kraut hergestellte Tinktur bewirkte nach einige Zeit hindurch fortgesetzter Aufnahme bei gesunden Individuen das Auftreten von allerlei schmerzhaften Sensationen in der Muskulatur, an den Gelenken und an den langen Röhrenknochen. Gleichzeitig entwickelten sich anhaltende, stechende Schmerzen in der Schläfengegend mit allgemeiner Eingenommenheit des Kopfes. Der Schlaf wurde schlecht, oft unterbrochen, dafür bestand dann über Tage große Müdigkeit. Die Gemütsstimmung wurde reizbar und hypochondrisch.

Am Auge entwickelten sich äußerlich Schmerzempfindungen, hervorgerufen durch eine beginnende Entzündung der Konjunktiva, die sich bis zur ausgeprägten Conjunctivitis Bulbi et Palpebrarum ausbildete.

Das Sprechvermögen wurde in ähnlicher Weise, wie wir dies bei der Dulkamara schon kennen gelernt haben, behindert. Die Sprache wurde, zumal bei der Wortbildung, stotternd. Die Atmungsorgane reagierten durch das Auftreten von Fließschnupfen mit häufigem Nießen, sowie durch die Entwicklung von Luftröhrenkatarrh. Der durch den Husten herausbeförderte Schleim löste sich schwer. Begleitend stellte sich Atembeklemmung ein. Das Zahnfleisch zeigte starke Neigung zum Bluten. Es entwickelten sich die Symptome eines

leichten Magenkatarrhs mit Aufstoßen und unangenehmem Geschmack. Anhaltende Leibschmerzen traten ein, der täglich erfolgende Stuhl war hart. Die Diurese erschien deutlich gesteigert, der Harn war hell gefärbt.

Angewandt wird die Euphrasia von der genannten Schule bei Schnupfen mit sehr reichlichem Sekret und gleichzeitig bestehendem Stirnkopfschmerz. Ferner bei katarrhalischen Erkrankungen des Auges, wenn gleichzeitig reichlich schleimig-eitriges Sekret entleert wird. Auch bei Husten mit zähem Auswurf wird die Euphrasia gegeben. Sie soll auch bei Gedächtnisschwäche und erschwerter Wortbildung, also bei dem Krankheitsbilde, wie man es nach dem Mißbrauch von Brompräparaten zu sehen bekommen kann, wirksam sein."

---

## B. Spezieller Teil.

### Eigene Untersuchungen.

Die zu untersuchende Droge wurde von der Firma A.G. vorm. B. Siegfried in Zofingen bezogen und stammte aus der Umgebung von Marbach im Entlebuch. Um zu ermitteln, welcher Art der betreffende Augentrost angehört, wurden von mir an Ort und Stelle möglichst verschieden aussehende Exemplare gesammelt. Dabei handelte es sich beim größten Teil um **Euphrasia Rostkoviana** und nur wenige Exemplare hatten einen andern Habitus, waren aber unter sich gleich. Die reine Art konnte indessen nicht festgestellt werden. Sie dürfte entweder als eine Form von Euphrasia Rostkoviana, z. B. **Euphrasia Rostkoviana f. uliginosa Ducommun** angesehen oder, was wahrscheinlicher schien, als Bastard von **Euphrasia Rostkoviana** × **Euphrasia stricta** bezeichnet werden. Letzteres um so mehr, als Merkmale von Euphrasia stricta vorhanden waren, z. B. der äußere Habitus; ferner trugen die Blattspitzen ausgesprochene Stachelspitzen und die Kelchzipfel wurden von der Kapsel nicht überragt. Dagegen waren Drüsenhaare vorhanden, die der reinen Form von Euphrasia stricta vollständig fehlen.

### I. Voruntersuchungen.

#### 1. Extraktion kleiner Drogenmengen.

In den folgenden orientierenden Versuchen wurde die geschnittene und die gepulverte Droge probeweise mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln erschöpft. Zu diesem Zweck wurden abgewogene Mengen der Droge in eine Filterkapsel gebracht und im

Soxhlet so lange ausgezogen, bis das Extraktionsmittel farblos abfloß. Im Vakuum wurde abdestilliert und das gewonnene Extrakt im Exsikkator aufbewahrt. Die mit Petrolaether, Essigaether und Benzol erzielten Ergebnisse sind aus nachstehender Tabelle ersichtlich.

| Droge | Menge | Extraktionsmittel | Farbe des Auszugs | Konsistenz und Farbe des Trocken-Extrakts | Extraktmenge |
|---|---|---|---|---|---|
| Herb.E.conc. | 10,0 g | Petroläther | grün | schmierig, dunkelgrün | 0,25 g=2,5 |
| Herb.E.pulv.(IV) | 50,0 g | Petroläther | grün | „ schwarzgrün | 1,4 g=2,8 |
| Herb.E.conc. | 15,0 g | Benzol | grüngelb | feucht, dunkelgrün | 0,24 g=1,6 |
| Herb.E.pulv.(IV) | 40,0 g | Benzol | grüngelb | feucht, dunkelgrün | 0,68 g=1,7 |
| Herb.E.conc. | 10,0 g | Essigäther | dunkelgrün | dunkelgrüne Brocken | 0,32 g=3,2 |
| Herb.E.pulv.(IV) | 40,0 g | Essigäther | dunkelgrün | dunkelgrüne Brocken | 1,36 g=3,4 |

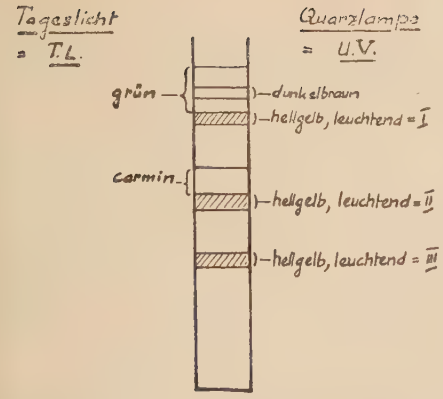
## 2. Chromatographische Untersuchung der gewonnenen Extrakte.

Es war beabsichtigt, die Methode der chromatographischen Adsorption als Hilfsmittel zur Analyse der Extrakte anzuwenden [25]). In unserm Falle waren die Lösungsmittel im vorneherein gegeben (Petroläther, Benzol, Chloroform etc.). Zur Wahl des geeigneten Adsorbens stellten wir Versuche mit Aluminium oxyd. anhydr., Calcium carbonic. ppt. und Sacchar. lact. an. $CaCO_3$ und Milchzucker ließen im allgemeinen bezüglich Adsorptionskraft zu wünschen übrig und zeitigten infolgedessen verschwommene, ineinander überfliessende Zonen. Am besten eignete sich Aluminium oxyd. anhydr.; in spätern Versuchen wurde auch Floridin X X F mit Erfolg ausprobiert (S. 67).

Elutions- und Lösungsmittel waren häufig identisch; gute Resultate erzielten wir vor allem beim Eluieren mit Aethyl- und Methylalkohol. Die Röhren, die zur Aufnahme des Adsorbens dienten, bestanden aus gewöhnlichem Glas. Für die Vorversuche fanden Adsorptionsröhren von 11 cm Länge und 1 cm innerem Durchmesser Verwendung. Zur Adsorption gelangten ca. 1 %-ige Lösungen der Extrakte in ihren entsprechenden Lösungsmitteln.

a) **Adsorption von 10 cc einer 1,5 %-igen petrolätherischen Lösung von Extr. Euphras. auf $Al_2O_3$.**

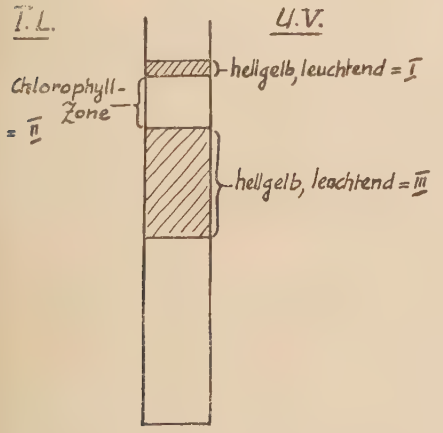
Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 25 cc Petroläther:




Die Zonen I bis III wurden herausgeschält und mit je 10 cc Alkohol 96 % warm eluiert. Aus Zone I erhielten wir ein dunkelgelbes, aus Zone II ein hellgelbes, aus Zone III ein farbloses Eluat. In den Verdunstungsrückständen waren zum kleinsten Teil kristalline Substanzen von körnchenartiger Form erkennbar. Es wurde auf Sterine und mit verd. Salzsäure auf ein evt. Chromoglykosid geprüft. Die Reaktionen verliefen negativ. Der Durchlauf war farblos und gab keinen Rückstand.

b) **Adsorption von 20 cc einer 1 %-igen Benzol-Extraktlösung auf $Al_2O_3$.**

Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 30 cc Benzol:




Die Zonen I bis III wurden mit je 10 cc Alkohol 96 % eluiert.

Eluat aus Zone I:
schwach gelb
Eluat aus Zone II:
grünlichgelb
Eluat aus Zone III:
hellgelb.

Die Rückstände aus den Eluaten wurden mit Benzol aufgenommen und im Eisschrank zum Verdunsten gestellt.

Es wurden erhalten aus

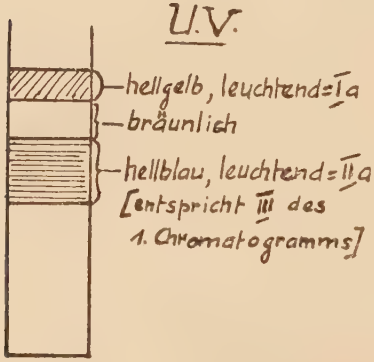
Zone I: ganz vereinzelte Kristallnadeln
Zone II: ein amorpher gelblicher Stoff
Zone III: vereinzelte Kristallnädelchen in Büscheln.

Der Durchlauf war farblos und frei von gelösten Stoffen.

c) **Adsorption von 50 cc einer 1 %-igen Essigäther-Extraktlösung auf $Al_2O_3$.**

Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 10 cc Essigäther im U.V.-Licht:

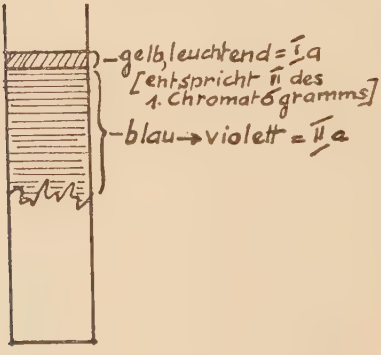
Das Chromatogramm fiel durch seine Vielschichtigkeit und seine Farben auf. Aus dem alkoholischen Eluat der gelben Zone II ging ein brauner, amorpher Rückstand mit kristallinen Einschlüssen (als Fadenkreuze erscheinende Kristalle) hervor. Wir lösten ihn auf dem Wasserbad mit Essigäther und adsorbierten ein zweites Mal auf $Al_2O_3$; zum Entwickeln wurden 10 cc Essigäther durchgeschickt.




Chromatographisches Bild von Zone II nach der 2. Adsorption:

Zone II war, wie zu erwarten, nicht einheitlich. Aus ihr entstanden die Zonen Ia und IIa, deren alkoholische Eluate gelblich, resp. farblos waren. Aus ersterem ging ein halbkristalliner, aus letzterem ein amorpher Körper hervor.

Die als vielschichtig erscheinende Zone IV des 1. Essigäther-Chromatogramms schien uns ebenfalls einer zweiten Adsorption wert. Wir eluierten sie mit Alkohol 96 % und adsorbierten sie wiederum aus Essigäther auf $Al_2O_3$.



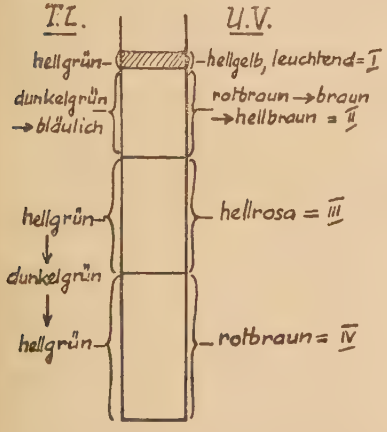

Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 5 cc Essigäther im U.V.-Licht:

Wir eluierten Zone IIa mehrmals mit Essigäther, vereinigten die Eluate in einer Kristallisierschale und stellten sie in den Eisschrank zum Verdunsten. Der Rückstand war amorph, von harzartiger Konsistenz.

### 3. Herstellung von Auszügen aus ein und derselben Drogenmenge mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln.

500,0 gr gepulverte Droge wurden am Rückflußkühler mit **Petroläther** vollkommen erschöpft. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels lag ein schmieriges, schwarzgrünes Extrakt vor. Die Ausbeute betrug 10,0 gr, also 2 % der verarbeiteten Drogenmenge. Irgendwelche einheitlichen Stoffe konnten daraus nicht isoliert werden. Die ausgezogene Droge wurde an der Luft getrocknet und darauf in gleicher Weise mit **Benzol** extrahiert. Es wurden 3,0 gr (= 0,6 %) eines noch dunkelgrün gefärbten Extrakts gewonnen, das nicht völlig trocken erhalten wurde und bei der Aufarbeitung ebenfalls keine Ergebnisse zeitigte.

Ein Zwischenversuch sollte über das folgende zu wählende Extraktionsmittel Aufschluß geben. Aus diesem Grund wurden 20,0 gr der mit Petroläther und Benzol vorbehandelten und getrockneten Droge im Soxhlet mit **Chloroform** extrahiert. Es wurde ein trockenes, noch stark grün gefärbtes Extrakt erhalten, dessen Ausbeute 0,25 gr (= 1,25 %) betrug. Es roch — wie übrigens der Petroläther- und Benzolauszug auch — stark aromatisch. Das Extrakt wurde in 25 cc Chloroform gelöst und auf $Al_2O_3$ adsorbiert.




Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 10 cc Chloroform + 1% Methylalkohol:

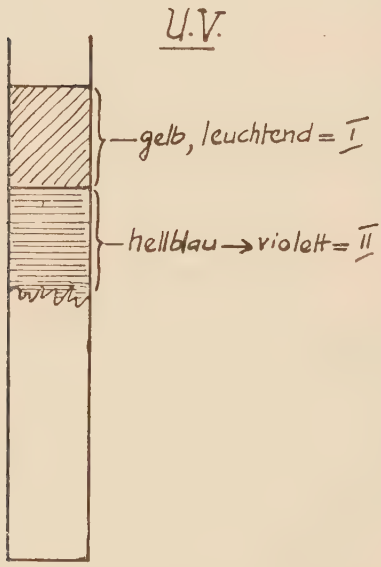
Näher untersucht wurden die Zonen I und II. Ihre alkoholischen Eluate wurden verdunstet und die Rückstände mit Chloroform aufgenommen. Aus Zone I erhielt man Spuren einer kristallinen Substanz (Körnchen und unvollständig ausgebildete Nädelchen), aus Zone II einen amorphen Rückstand.

Als Extraktionsmittel konnte demnach Chloroform zum Zweck einer Vorreinigung in Frage kommen. Aus der übriggebliebenen Drogenmenge von 480,0 gr wurden mit Chloroform 6,3 gr Extrakt gewonnen, was 1,3 % entspricht. Das Extrakt wurde nicht näher untersucht, da auf Grund der Versuchs-Adsorption keine nennenswerten Resultate zu erwarten waren.

Für den nun folgenden **Essigätherauszug** wurden 232 gr vorextrahiertes Drogenpulver benützt. Der Essigäther wurde vor jeder

Extraktion rektifiziert; verwendet wurde die zwischen 74° und 77° destillierende Fraktion (Ph. H. V.). Der Essigäther lieferte ein pulverisierbares, grün-bräunliches Extrakt, von schwach aromatischem Geruch. Es wurden 3,9 gr gewonnen, was rund 1,7 % entspricht.

Eine kleine Menge des Extrakts wurde zu Vergleichszwecken adsorbiert. Es interessierte zu erfahren, ob die im ersten Vorversuch als wichtig befundenen Zonen auch hier in Erscheinung treten würden, oder ob das Chromatogramm infolge des andersartigen Extraktionsverfahrens verändert sei. Zur Adsorption auf $Al_2O_3$ gelangten 10 cc 1 %ige Essigätherextrakt-Lösung.




Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln mit 10 cc Essigäther:

Das Säulenbild schien im ganzen dem frühern (S. 34) ähnlich. Auffallend waren auch hier die gelb- und die blauleuchtende Zone. Wir trennten diese beiden Schichten ab und eluierten sie mehrmals mit Essigäther auf dem Wasserbad. Das Eluat aus Zone I war schwach gelb gefärbt, dasjenige aus Zone II farblos. Nach dem Verdunsten des Essigäthers kamen aus dem ersteren sehr vereinzelt Kristalle von rechteckiger Form zum Vorschein, während der Rückstand aus dem zweiten Eluat nur wenige rundlich erscheinende Kristalle enthielt.

Obschon eine geringe Ausbeute vorlag, versuchten wir aus Alkohol 96 % umzukristallisieren. Dabei wurden in Eluat I die beschriebenen Kristalle etwas häufiger. Eluat II lösten wir warm in wenig Alkohol und gaben einige Tropfen Wasser zu. Es entstand eine schwache Trübung und bei gewöhnlicher Temperatur bildeten sich vereinzelt feine Kristallnädelchen. Bei einem in gleicher Weise wiederholten Versuch wurden die Kristalle nicht mehr erhalten; an ihrer Stelle entstanden quaderartige Formen, eingeschlossen in eine amorphe Komponente.

Auf Grund der Ergebnisse, die wir bisher mit dem Essigätherextrakt hatten sammeln können, schien es angezeigt, diesem Auszug besondere Aufmerksamkeit zu widmen und ihn näher zu prüfen.

### 4. Essigätherextrakt.

Das Extrakt wurde aus der mit Petroläther, Benzol und Chloroform vorextrahierten Droge gewonnen. Eine kleine Menge des Trockenextrakts hatte zur Ausführung einer Adsorption auf $Al_2O_3$ Verwendung gefunden (S. 36). Zu den im folgenden beschriebenen Versuchen standen uns noch rund 3,5 gr Extrakt zur Verfügung.

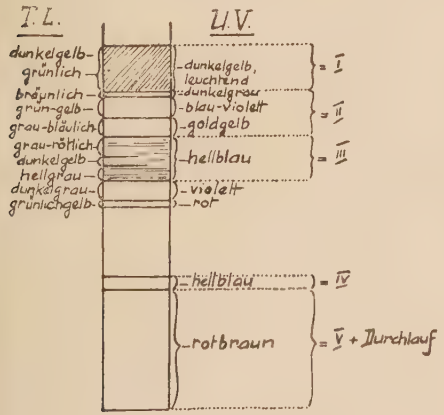
Wir versuchten diese 3,5 gr wieder in Essigäther zu lösen. Dabei stellte sich heraus, daß in der Kälte nurmehr ein Teil derselben in Lösung ging.

#### A. In Essigäther leicht löslicher Anteil.

Es wurden 1,5 gr, etwas weniger als die Hälfte des Extrakts, herausgelöst. Die Farbe der ungefähr 1%igen Lösung erschien in der Durchsicht dunkel gelb-grün, in der Aufsicht bräunlich-rot.

#### Adsorption des leicht löslichen Anteils auf $Al_2O_3$.

Zu dieser Adsorption verwendeten wir eine Röhre von 30 cm Höhe und ca. 94 cc Inhalt. Zur Adsorption gelangte die gesamte Menge, 150 cc, der 1%igen essigätherischen Lösung. Das Chromatogramm wurde mit einer Mischung von 100 cc Essigäther + 1 % Aethylalkohol entwickelt.




Chromatographisches Bild nach dem Entwickeln:

Das Säulenbild zeigte unter der Quarzlampe ziemlich scharf voneinander abgegrenzte Schichten; es fiel ferner durch die intensive Fluoreszenz einzelner Zonen auf. Die Säule wurde nach der auf der Abbildung ersichtlichen Weise in ihre Abschnitte zerlegt.

#### Aufarbeitung des Chromatogramms.

Zur Ermittlung der geeignetsten Elutionsflüssigkeit wurden zuvor mit kleinen Mengen aus Zone I eine Reihe von Probeversuchen ausgeführt.

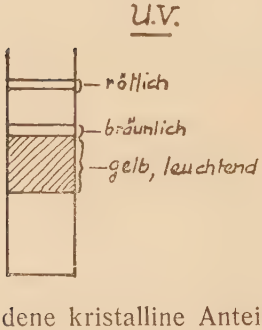
Auf ihre Eignung prüften wir Alkohol 96 %, Wasser und Chloroform, eine Mischung gleicher Teile Alkohol und Wasser, ferner Aether mit einem Zusatz von 5 % Methanol. Die besten Ergebnisse erzielten wir mit Alkohol 96 %.

Bei der Aufarbeitung der einzelnen Zonen wurde versucht, möglichst quantitativ zu eluieren, was sich bei erfolgreichem Arbeiten bei den gefärbten Zonen leicht feststellen läßt; bei den nicht gefärbten empfiehlt sich die Zuhilfenahme der Quarzlampe. — Die Eluate aus den respektiven Schichten wurden dann vereinigt und im Vakuum eingeengt; aus diesen Lösungen versuchte man kristalline Substanzen zu gewinnen.

**Zone I** wurde sechsmal hintereinander mit je 100 cc Alkohol warm eluiert, die Eluate vereinigt und mehrmals, bis zu völliger Klärung, filtriert. Das Filtrat war hellgelb. Nach dem Einengen auf ungefähr 4 cc zeigte es dunkel gelbgrüne Farbe und hatte cumarinähnlichen Geruch.

3 cc dieser Lösung brachten wir im Vakuum zur Trockne. Es verblieb ein gelber, amorpher Rückstand, der, in 2 cc Alkohol gelöst, bei gewöhnlicher Temperatur aufbewahrt wurde. Erst nach völligem Verdunsten des Alkohols wurden unter dem Mikroskop ziemlich zahlreiche, drusenartige Kristalle sichtbar. Beim Polarisieren erinnerte ihr Bild an Fadenkreuze.

Diese kristallinen Gebilde waren indessen eingeschlossen in einen amorphen, klebrigen Körper. Um zu entscheiden, ob die Zone einheitlich sei, wurde eine kleine Menge derselben mit Essigäther aufgenommen und auf $CaCO_3$ adsorbiert. Das Chromatogramm dieser Mikroadsorption zeigte folgendes Bild:




Bei gewöhnlichem Licht waren keine Zonen sichtbar. Es schien angezeigt, zwecks weiterer Aufteilung, den ganzen Rückstand auf $CaCO_3$ aus Essigäther zu adsorbieren. Mit Alkohol ließ sich leicht eluieren. Aus der rötlichen und bräunlichen Zone gingen unwägbare Mengen amorpher Substanz hervor. Sie wurden nicht berücksichtigt. Mit dem Eluat der gelben Zone wurde indessen kein besseres Ergebnis erzielt. Der unzweifelhaft vorhandene kristalline Anteil konnte von dem ihn begleitenden, amorphen Körper nicht abgetrennt werden.

1 cc des ursprünglichen Eluats aus der Adsorption auf Aluminiumoxyd wurde verdunstet und der Rückstand mit Petroläther auf dem Wasserbad mehrmals ausgekocht. Aetherisches Oel hätte auf diese Weise abgetrennt werden können, doch schien der Petroläther überhaupt nichts zu lösen. Weitere Aufarbeitung dieser Zone s. Methylalkoholextrakt (s. Hauptuntersuchungen S. 64).

**Zone II** (nicht einheitlich). Die alkoholischen Eluate aus dieser dreischichtigen Zone wurden im Vakuum eingedampft und der Rückstand aus einer essigätherischen Lösung ein zweites Mal auf Aluminiumoxyd adsorbiert. Es wurde keine weitere Aufteilung erzielt; das Säulenbild entsprach im ganzen dem bezüglichen Abschnitt der 1. Adsorption. Lediglich die goldgelbe, fluoreszierende Zone war breiter geworden. Sie soll als eigentliche Zone II gelten. (Die dunkelgraue und die blau-violette Schicht wurden nicht berücksichtigt.) Das Eluat hatte grünlich-gelbes Aussehen, ebenso der aus ihm gewonnene Verdampfungsrückstand. Unter dem Mikroskop betrachtet, erschien er nicht einheitlich. Es konnten vielmehr zwei kristalline Anteile unterschieden werden, wovon der eine dieselben Formen aufwies, wie sie uns bei Zone I begegnet waren. Daneben traten kleine, runde, beim Polarisieren nicht stark leuchtende Kristalle auf.

Mit Petroläther gelang es den größten Teil der die Kristalle begleitenden gelben Farbkomponenten herauszulösen. Sodann wurde aus Alkohol mehrmals umkristallisiert, wobei die Kristalle einheitlichere Form annahmen. Daneben versuchten wir mit Petroläther den Rückstand noch mehr aufzuhellen. Der abgetrennte gelbe Farbkörper ging als geringer, amorpher und klebriger Stoff aus dem Petroläther hervor. Eine vollständige Reinigung gelang indessen nicht.

Im Lauf dieser Vorreinigung hatten sich die Löslichkeiten der Kristalle verändert. In Alkohol wurden sie scheinbar schwerer löslich; sie waren unlöslich in Wasser, schwer löslich in Aether und Petroläther, löslich in Chloroform.

Die Kristalle wurden auf dem Wasserbad in einer Mischung gleicher Teile Alkohol und Petroläther gelöst, die Lösung in den Eisschrank gestellt. Der Rückstand wies nach dem Verdunsten bäumchenartige kristalline Gebilde auf. Dasselbe Ergebnis erhielten wir beim Versuch, aus einer Mischung gleicher Teile Alkohol und Chloroform zu kristallisieren.

Die an sich geringe Menge Substanz wurde nicht weiter aufgearbeitet.

**Zone III.** Nach viermaliger warmer Elution mit Alkohol erschien diese Schicht unter der Quarzlampe betrachtet nurmehr blaßbläulich; es konnte also angenommen werden, daß der größte Teil adsorbierter Substanz herausgelöst war. Das schwach gelb gefärbte Eluat lieferte indessen nur eine geringe Menge eines harzigen Körpers von gelblichem Aussehen. Unter dem Mikroskop waren darin eingeschlossen „Fadenkreuz"-Kristalle erkennbar. Da vermutet werden konnte, dieser Stoff entspreche dem Aufarbeitungsrückstand aus Zone II des Probechromatogramms (s. Voruntersuchungen S.

36), wurde wie dort versucht, aus Alkohol 96 % und dann aus Alkohol unter Zugabe einiger Tropfen Wasser zu kristallisieren. Es wurde kein befriedigendes Ergebnis erzielt.

Die geringe Ausbeute ließ es nicht wünschenswert erscheinen, den Rückstand näher zu untersuchen.

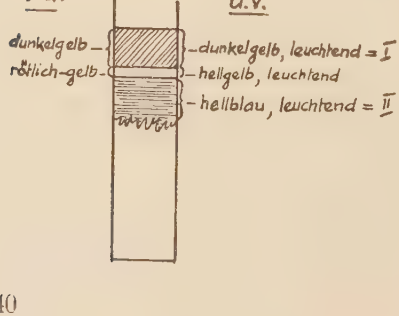
**Zone IV:** Die Ausbeute an Substanz war noch geringer als bei Zone III. Die Beschaffenheit des Rückstandes entsprach im ganzen dem Vorhergehenden. Er wurde nicht verarbeitet.

Als letzter wurde der Durchlauf einer nähern Prüfung unterzogen. Wir dampften ihn auf ungefähr einen Drittel seines Volumens ein und ließen bei gewöhnlicher Temperatur langsam verdunsten. Der Rückstand war ziemlich reich an Chlorophyll, daneben konnten wir mikroskopisch kleine, feine Nadeln feststellen. Mit kleinen Mengen Alkohol gelang es, den größten Teil des Chlorophylls allmählich zu entfernen, ohne daß die kristalline Komponente in Lösung ging. Sie war außerdem unlöslich in Wasser; leicht löslich in Benzol und Chloroform.

Es wurde versucht, aus letzterem zu kristallisieren, wobei wir der Lösung Alkohol bis zum Eintreten schwacher Trübung zufügten. In der gelblich gefärbten Mutterlauge erschienen die Nadeln auf diese Art etwas besser ausgebildet. Der geringen Menge wegen konnte eine Abtrennung durch Abgießen oder Filtration nicht in Frage kommen.

### B. **In Essigäther schwer löslicher Anteil.**

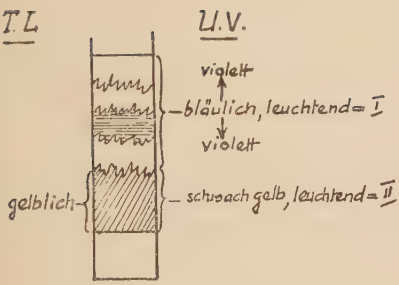
Die übrig gebliebenen 2,0 gr, von gummiartiger Konsistenz, konnten wir nur mit Mühe durch längeres Erwärmen auf dem Wasserbad lösen. Wir benötigten dazu rund 350 cc Essigäther. Die ungefähr 0,6 %ige Lösung war hellgelb gefärbt und erschien leicht getrübt. Mit je 10 cc dieser Lösung führten wir 2 orientierende Versuchsadsorptionen durch, die eine auf $Al_2O_3$, die andere auf $CaCO_3$. (Adsorptionsröhren von 1 cm innerem Durchmesser und 11 cm Länge.) Zum Entwickeln benötigten wir je 10 cc Essigäther.




a) **Adsorption auf $Al_2O_3$.**

Chromatographisches Bild:

Als Charakteristika konnten auch hier eine gelb- und eine blaufluoreszierende Zone gelten. Infolge der zu erwartenden geringen Ausbeute wurde nicht eluiert.




b) **Adsorption auf $CaCO_3$.**

Chromatographisches Bild:

Die gelbe und die blaue Zone erschienen hier in umgekehrter Reihenfolge adsorbiert; ihre Grenzen waren, verglichen mit der Aluminiumoxyd-Säule, verwischt. Die Rückstände aus den alkoholischen Eluaten der beiden Zonen zeigten einander ähnliche Bilder, was als Folge der unscharfen Trennung anzusehen ist. Festgestellt wurden eine gelbliche, amorphe und, darin eingebettet, eine kristalline Substanz. Letztere bestand aus zahlreichen, sehr kleinen, eckigen Kristallen.

Es schien auf Grund dieser Beobachtungen ratsam, auf anderem Weg den Rest der Lösung (ca. 330 cc) zu untersuchen. Beim Einengen im Vakuum setzte sich zuerst ein gelblicher Körper an der Wand des Destillierkolbens ab. Die Lösung wurde abgegossen und der ausgefallene Bestandteil getrocknet. Er stellte ein gelbliches Pulver von brennend-adstringierendem Geschmack dar. Es war in Wasser und Alkohol leicht löslich, in Essigäther schwer, in Chloroform, Petroläther und Benzol unlöslich. Seine wässerige Lösung wurde durch Eisenchlorid dunkelgrün gefärbt. Vermutlich handelte es sich um Gerbstoffe. Das mikroskopische Bild ließ amorphe Formen erkennen, die beim Polarisieren am Rande etwas aufleuchteten.

**Versuch zur Abtrennung kristalliner Substanzen:**

Wir lösten das Pulver (0,9 gr) in gleichen Teilen Alkohol und Essigäther; die Lösung brachten wir in einen Schwefelsäure-Exsikkator zum Verdunsten, wobei nichts kristallisierte. Den Rückstand lösten wir in ca. 5 cc warmem Wasser und stellten die Lösung wiederum in den genannten Exsikkator. Im Laufe der Verdunstung bildeten sich über die ganze Oberfläche verteilt Kristalle, die von bloßem Auge als glitzernde Punkte wahrgenommen wurden. Im Mikroskop betrachtet, erschienen sie von ziemlich einheitlicher, teils sargdeckelförmiger, teils prismatischer Struktur. Bei einer Abtrennung durch Filtration traten Verluste auf. Aus dem Filtrat und später aus dem Rückstand konnten auf die beschriebene Art keine Kristalle mehr gewonnen werden.

---

**5. Aethyl-Alkoholextrakt.**

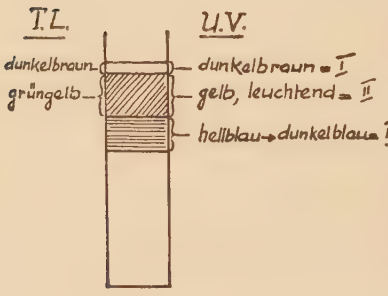
Die zur Bearbeitung gelangte, mit Petroläther, Benzol, Chloroform und Essigäther vorextrahierte und getrocknete Drogenmenge betrug rund 230,0 gr. Es wurde in gewohnter Weise am Rückfluß-

kühler mit Alkohol 96 % ausgezogen. Um möglichst quantitativ zu arbeiten, wurde der Auszug nach dem Perkolationsverfahren fertiggestellt. Die Extraktlösung war von dunkelbrauner Farbe. Es wurden 20,0 gr (= 8,9 %) eines ebenso gefärbten, brüchigen, leicht pulverisierbaren Trockenextrakts gewonnen.

Beim Einengen der Extraktlösung hatte sich an der Wandung des Jeanertopfs eine weißlich-schimmernde Substanz gebildet, deren kristalline Natur von bloßem Auge erkennbar war. Man konnte das Vorhandensein feiner Kristallnadeln feststellen. Sie hatten, wie es sich unter dem Mikroskop zeigte, spitze Enden, waren im ganzen Extrakt gleichmäßig und zahlreich vertreten und teils in Rosetten angeordnet.

Wir versuchten zuvor auf dem Wege der Adsorption eine Trennung zu erzielen und stellten zu diesem Zwecke mit 20 cc einer 1%igen Alkoholextraktlösung auf $Al_2O_3$ ein Versuchschromatogramm her.

Säulenbild nach dem Entwickeln mit 10 cc Alkohol:




Das Chromatogramm fiel durch seine geringe Anzahl von Schichten auf. Wir eluierten die 3 Zonen mit Alkohol auf dem Wasserbad. Aus den Eluaten der Zonen I und III ließen sich keine kristallinen Stoffe gewinnen; der Rückstand aus Eluat III war von harzartiger Beschaffenheit. Im Eluat der Zone II bildeten sich nur sehr vereinzelt Kristallnadeln. Im Ganzen schien uns daher diese Art der Aufarbeitung nicht geeignet.

Wir versuchten nun nach den üblichen Methoden die kristalline Komponente zu isolieren. Beim Auflösen des Extrakts in Alkohol hatte sich gezeigt, daß sie sich nicht ohne weiteres wieder lösen ließ. Durch mehrfaches Beifügen kleiner Alkoholmengen wurde versucht, dem Extrakt die leicht löslichen Bestandteile zu entziehen. Den stark entfärbten Rückstand lösten wir in heißem Alkohol. Beim Erkalten begann bereits die Kristallbildung. Die Mutterlauge wurde abgetrennt, eingeengt und in den Eisschrank gestellt. Der so auf dem Weg der fraktionierten Kristallisation gewonnene Körper wurde zuerst mit Alkohol gewaschen und dann so oft aus heißem Alkohol umkristallisiert, bis er in rein weißem Zustand vorlag. Er bildete feine, seidenglänzende Nadeln von süßem Geschmack. Die Kristalle waren löslich in Wasser und Alkohol, unlöslich in Aether. Die wässerige Lösung reagierte gegen Lackmus neutral. Aus Was-

ser kristallisierte der Stoff in Form farbloser Prismen. Bei der Feststellung seiner organischen Beschaffenheit konnte auch beobachtet werden, daß der Körper sublimierbar war.

Reaktionen: Der Kohlehydratnachweis mit α-Naphtol und konzentrierter Schwefelsäure fiel negativ aus; Fehling'sche Lösung wurde bei kurzem Kochen nicht reduziert. Mit Eisenchlorid wurden weder Farbänderungen noch Fällungen erzielt. Eine Probe mit Mayer's Reagens versetzt, blieb unverändert.

Der **Schmelzpunkt** wurde bei der ersten Bestimmung bei 168° korr. (Mikro-Smp.-Bestg. Apparat n. Kofler) gefunden. Eine durch Sublimation erhaltene Probe schmolz bei 166° korr.

Anhand der Schmelzpunktstabellen [36]) konnte angenommen werden, daß es sich bei der gefundenen Substanz um d-Mannit, $CH_2OH.(CHOH)_4.CH_2OH$, handle.

Der Smp. von d-Mannit wird allgemein bei 166° angegeben; (Karrer [37]) findet ihn bei 165—166°).

### Chemische Identifizierung.

1. 5 cc einer wässerigen Lösung der Kristalle + 1 cc $CuSO_4$-Lösung (1 = 20) + 5 cc NaOH gaben eine beim Erhitzen unverändert bleibende, tiefdunkelblaue Flüssigkeit. (Bildung einer Cu-haltigen Komplexverbindung [38]) ).

2. Zur Identifizierung des Mannit ist die Darstellung seiner Tribenzalverbindung besonders geeignet. Klein [39]) gibt für diesen Körper den Smp. 213—217° unkorr. an; nach Pette (zit. bei Klein [39]) ) liegt er bei 224°. Tribenzalmannit ist unlöslich in Wasser, besser löslich in siedendem Benzin, Chloroform oder Essigsäure.

Houben-Weyl [40]) macht genaue Angaben über die Darstellung von Dibenzalerythrit, aus denen sich diejenige von Tribenzalmannit ableiten läßt. (Vergl. auch Schweiz. Lebensmittelbuch [41]): Nachweis von Sorbit durch Dibenzalsorbit).

Darstellung von Dibenzalerythrit: Man löst 1 Teil **Erythrit**, $CH_2OH(CHOH)_2CH_2OH$, in 3 Teilen 50%iger Schwefelsäure (oder Salzsäure vom spez. Gew. 1,19 oder $P_2O_5$) und schüttelt kräftig mit 2 Teilen Benzaldehyd (oder einem Halogenderivat desselben) durch. Nach kurzer Zeit erstarrt das Gemisch durch Ausscheidung der kristallinischen Benzalverbindung. Das Produkt wird nach einiger Zeit mit Wasser verdünnt, filtriert und sorgfältig mit Wasser bis zur Entfernung der Säure (Lackmus) gewaschen und schließlich aus siedendem Alkohol umkristallisiert. Die Ausbeute ist sehr gut.

### Darstellung des Tribenzalmannits:

Wir brachten 0,05 gr unserer Substanz zur Reaktion. Aus den Molekulargewichten des Mannit ($C_6H_{14}O_6$, Mol. Gew. = 182) und des Benzaldehyd ($C_7H_6O$, Mol. Gew. = 106) errechnet sich die benötigte

Menge des letzteren auf rund 0,09 gr. Wir verwendeten etwas mehr, nämlich 0,1 gr Benzaldehyd, ferner 0,15 gr Schwefelsäure 50%. Es wurde ein Reaktionsprodukt von rein weißem Aussehen und kristalliner Struktur erhalten. Als Testsubstanz gelangte ein Tribenzalmannit zur Verwendung, den wir uns aus 1,0 gr chemisch reinen Mannits, 1,74 gr Benzaldehyd und 3,0 gr Schwefelsäure 50% bereitet hatten.

**Bestimmung der Smp. der beiden Körper:**

Reaktionsprodukt aus Herb. Euphrasiae: Smp. *222*° korr.
Tribenzalmannit aus Mannit pur. (Test): Smp. *223*° korr.
Mischschmelzpunkt: *222*° korr.

Die Benzalverbindungen konnten als identisch bezeichnet werden. Damit dürfte auch der Beweis für das Vorkommen von Mannit in Herb. Euphras. erbracht sein.

Nachdem auf die beschriebene Art dem Alkoholextrakt der Mannit größtenteils entzogen worden war, wurde die verbleibende alkoholische Lösung im Vakuum zur Trockne gebracht. Der Rückstand war nicht mehr pulverisierbar, sondern bildete vielmehr eine zähe, braune Masse. Eine Probe derselben löste sich in Wasser beinahe klar. In dieser Lösung erzeugte Eisenchlorid einen grünen Niederschlag. Mit Thymolblau und konz. Schwefelsäure konnte ferner die Gegenwart von Kohlehydraten festgestellt werden. Beim Erhitzen mit verdünnter Salzsäure färbte sich die Lösung blaugrün und es trat beim Erkalten ein dunkler Niederschlag auf, der sich mit Amylalkohol ausschütteln ließ. Zweifellos handelte es sich dabei um das Vorhandensein des in der Literatur häufig erwähnten, als Chromoglykosid oder Chromogen bezeichneten, spaltbaren Körpers (Siehe Allg. Teil, S. 19 u. f. und Spez. Teil: Das Methylalkoholextrakt S. 56 u. f.). Beim Neutralisieren der salzsauren Lösung mit NaOH nahm letztere wieder braune Farbe an. Sie reduzierte Fehling'sche Lösung.

Beim Schütteln der wässerigen Lösung bildete sich reichlich Schaum, der längere Zeit bestehen blieb. Diese Beobachtung veranlaßte uns, die Frage nach der An- oder Abwesenheit von Saponinen zu stellen. Roberg[42]) hat an 102 Drogen, darunter auch Euphrasia, Untersuchungen über das Vorkommen von Saponinen angestellt. Er betonte, daß eine Hämolyse an sich kein Saponin anzuzeigen braucht, daß vielmehr die Pflanze erst dann als saponinhaltig bezeichnet werden kann, wenn der Cholesterin-Xylol-Versuch positiv ausfällt. (Roberg[42]) arbeitete mit Blutgelatine, die 2,5% defibriniertes Blut enthielt). Unter dieser Voraussetzung konnte er bei Euphrasia kein Saponin nachweisen.

Um die Frage zu überprüfen, führten wir zunächst nach der bei Kofler[43]) angegebenen Weise einen Hämolyseversuch durch. Wir

verdünnten defibriniertes Pferdeblut mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:50. 5 cc dieser 2%-igen Blutaufschwemmung wurden in einem Reagensglas mit 5 cc einer 1%-igen Lösung des zu untersuchenden Materials in physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Eine Vergleichslösung enthielt je 5 cc 2%ige Blutaufschwemmung und physiologische Kochsalzlösung.

„Bei positivem Ausfall des Hämolyseversuchs wird das Blut sofort klar und durchsichtig (lackfarben). Betrachtet man nach mehreren Stunden, so ist die Saponineprouvette unverändert geblieben, die Vergleichseprouvette dagegen ist klar und farblos geworden und zeigt nur am Boden ein rotes Häufchen von unveränderten Blutkörperchen. Schüttelt man die Vergleichseprouvette auf, so entsteht wieder die gleichmäßige trübe Blutaufschwemmung wie zu Beginn des Versuchs. Bei der Saponineprouvette verursacht Aufschütteln keine Trübung, man sieht höchstens vom Boden einen kaum sichtbaren Schleier aufsteigen." (Kofler [43]).

Unsere Versuchslösung zeigte nach ca. 2 Stunden eine deutliche Aufhellung. Beim Aufschütteln konnten wir nach einigen Stunden das Aufsteigen eines Schleiers konstatieren. Die Beurteilung des Versuchs war insofern schwierig, als die Lösung von Anfang an braun verfärbt war. Es schien daher ratsam, keine Rückschlüsse zu ziehen und zu versuchen, auf anderem Weg die Saponinfrage abzuklären.

Jaretzky und Lindner [44]) stellten sich eine konzentrierte Lösung eines Hämolytikums her, indem sie 2,0 gr eines getrockneten Blattpulvers von Medicago Sativa L. mit einem Gemisch von 25 cc Wasser und 2 cc $NH_4OH$ über 24 Stunden extrahierten. In den schwach alkalischen Auszug hängten sie einen 2 cm breiten und 30 cm langen, mit einer 3 cm hohen Cholesterinschranke versehenen Filtrierpapierstreifen so ein, daß die Schranke sich 0,5 bis 1 cm über dem Flüssigkeitsspiegel befand (Kapillarwirkung). Nach 48 Stunden wurden die Streifen herausgenommen und an der Sonne getrocknet. Ein abgetrennter Längsstreifen der Cholesterinschranke von 2 mm Breite erzeugte in Blutgelatine keine Hämolyse, dagegen rief ein zweiter, mit Xylol längere Zeit gekochter Längsstreifen starke Hämolyse hervor (Spaltung der Cholesterin-Saponinverbindung mit Xylol, wobei das Saponin auf dem Filtrierpapier bleibt).

Wir führten unsern zweiten Versuch in analoger Weise aus. Zur Anwendung gelangten 20,0 gr gepulverte und getrocknete Herb. Euphras., die wir während ca. 6 Stunden am Rückflußkühler mit einer Mischung von 200 cc Wasser und 15 cc $NH_4OH$ auszogen. Betreffend der Versuchsanordnung stützten wir uns auf die Angaben von Jaretzky und Lindner [44]). Unser Versuch verlief negativ; denn der verwendete Filtrierpapierstreifen rief nach gründlichem Auskochen mit Xylol keine Veränderung auf Blutgelatine hervor. Es kann daher als nachgewiesen gelten, daß Herba Euphrasiae keine Saponine enthält.

Die Ergebnisse aus den Voruntersuchungen, die mit dem Aethylalkohol-Extrakt ihren Abschluß fanden, lenkten unsere Aufmerksamkeit im besondern auf den Essigäther- und den Alkohol-Auszug. Es schien uns wünschenswert als Produkt für die folgenden Hauptuntersuchungen diese beiden Extrakte zu wählen und zu ihrer Herstellung eine größere Menge Ausgangsmaterial zu verwenden.

## II. Hauptuntersuchungen.

### 1. Essigätherextrakt.

Zur Gewinnung einer größeren Extraktmenge gelangten 4,5 kg Herb. Euphras. pulv. (III) zur Bearbeitung. Sie wurden mit 15 kg Essigäther im Soxhletapparat so lange ausgezogen, bis sich der Essigäther kaum mehr merklich färbte.

Aus der dunkelgrünen Extraktlösung wurden durch Eindampfen im Vakuum 150,0 gr Extrakt gewonnen, was 3,3 %, bezogen auf die gesamte Drogenmenge, entspricht.

Der aromatisch riechende Auszug war von schmieriger Konsistenz und enthielt körnige Einschlüsse. Sie traten bereits beim Erkalten der Extraktlösung deutlich zutage und setzten sich als milchiggrüner Bestandteil an den Wänden des Kolbens ab. Unter dem Mikroskop betrachtet, leuchteten sie beim Polarisieren auf; ihre kristalline Form war infolge der Begleitstoffe und vor allem wegen der starken Verfärbung durch Chlorophyll nicht erkennbar.

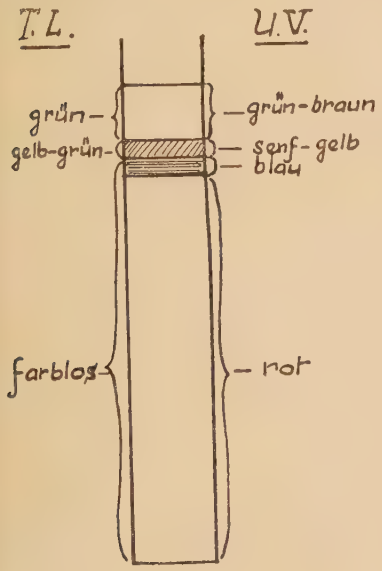
Es wurde zunächst versucht, ein Teil des Auszugs (30,0 gr) möglichst von Chlorophyll zu befreien. Zu diesem Zweck wurde das Extrakt nacheinander mit Petroläther, Benzol und Chloroform mazeriert; auf diese Weise konnte das Chlorophyll zum größten Teil herausgelöst werden. Der Rückstand war von teils hellgrünem, teils bräunlichem Aussehen und ließ sich zu Pulver verreiben.

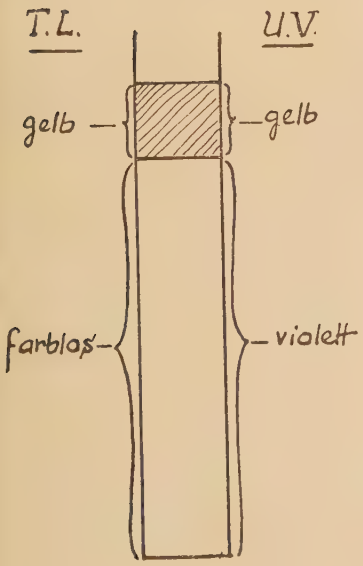
Im folgenden soll eine erste Aufarbeitung des vorgereinigten Extrakts beschrieben werden. 5,55 gr Extrakt wurden mit 50,0 gr Aceton geschüttelt, wobei ein grünlich-brauner, flockiger Anteil ungelöst blieb. Nach dem Abfiltrieren, Auswaschen und Trocknen betrug sein Gewicht 0,3 gr. In Alkohol und Wasser war er nur teilweise löslich, ebenso in NaOH; in letzterer mit gelber Farbe. Dieser Anteil wurde nicht näher untersucht. — Wir dampften die Acetonlösung ab und versetzten den Rückstand mit ca. 30,0 gr Wasser. Die trübe Lösung wurde ohne vorherige Filtration mit Essigäther ausgeschüttelt, wobei sich dieser tiefgrün und die Wasserlösung braun färbte; beide waren klar.

Der Essigätherrückstand (= 0,7 gr) wurde in wenig Aceton gelöst: Lösung A.

Die 2. Essigätherausschüttelung war gelb. Ihr Rückstand betrug nach dem Abdampfen ca. 0,2 gr; er wurde ebenfalls in Aceton gelöst: Lösung B (im ganzen entsprechend Lösung A).

Die wässerige Lösung brachten wir im Vakuum zur Trockne. Der Rückstand (= C) war in absolutem Alkohol sehr leicht löslich; er wurde im Exsikkator aufbewahrt.




**Versuche mit der Fraktion A** (Essigätherlösliche Substanz):

0,2 gr wurden in 10 cc conc. Alkohol gelöst und die klare Lösung im 1 × 14 cm Rohr auf $Al_2O_3$ adsorbiert. Nach dem Entwickeln mit 5 cc Alkohol und darauffolgendem Eluieren waren sowohl aus der blauen (U.V.) und roten (U.V.) Zone beim Verdunsten kristallinische Anteile zu beobachten. Die darüber liegenden Zonen wurden nicht verarbeitet.

**Löslichkeit von A:**

Aether: Mittel- bis schwerlöslich
Essigäther: schwerlöslich
Benzol: schwerlöslich
Azeton u. Alkohol: leicht löslich.

**Versuche mit der Fraktion C** (Wasserlöslicher Anteil):

**Löslichkeit von C:**

Aether: unlöslich
$CHCl_3$: unlöslich
Essigäther: heiß etwas löslich
Alkohol u. Wasser: leicht löslich.

**Adsorption:** 0,2 gr der Fraktion C wurden in 10 cc Alkohol gelöst (gelb-braun) und diese Lösung auf $Al_2O_3$ im 1 × 14 cm Rohr adsorbiert. Zum Entwickeln brauchte man 5 cc Alkohol. Die zu adsorbierende Lösung wurde sofort mit intensiv gelber Farbe filtriert (dieselbe Farbe, die beim Zusatz von Alkalien zur wässerigen Lösung auftrat). Also auf $Al_2O_3$: Reaktion. Die gelbe Zone war schwer zu

eluieren mit Alkohol, etwas besser mit Wasser, sehr leicht mit schwach angesäuertem Wasser (gelbe Farbe). Auf jeden Fall verhielt sich $Al_2O_3$ der Fraktion C gegenüber nicht indifferent und war daher nicht brauchbar. In der violetten Zone wurde nichts adsorbiert.

Bei der Anwendung von $CaCO_3$ und Talcum als Adsorbentien zeigte sich, daß beide zu schwach waren.

**Reaktionen mit Fraktion C** (Klein[45])

1. Mit Alkalien: gelbe Färbung.
2. „ $FeCl_3$, Eisenalaun: Smaragdgrüne Färbung.
3. „ Kal.bichromat: brauner Ndg.
4. „ Bleiazetat: starker gelber Ndg.
5. „ Alkaloiden (Coffein, Antipyrin, Pyridin): kein oder ganz schwacher Ndg.
6. „ Gelatine: schwache Trübungszunahme.
7. „ O = Verbindungen (Aldehyde, Ketone, Säuren, Aether, Ester):
   mit Vanillin: keine Trübung.
   mit Salicylaldehyd: keine Trübung.
8. „ Bromwasser: sofort Trübung.
9. Formaldehydprobe: schon nach 5' Ndg.
10. Essigsäure-Bleiazetatprobe: keine Fällung.
11. Schwefelammoniumprobe: keine Fällung.

Resultat: Die Fraktion C enthielt wahrscheinlich Gerbstoffe, und zwar zur Hauptsache Catechingerbstoffe (allerdings nicht alle Reaktionen positiv).

Es war auf die beschriebene Weise nicht gelungen, dem Essigätherextrakt irgendwelche kristallinen Bestandteile zu entziehen. Wir versuchten daher auf anderem Wege eventuell Genaueres über die Zusammensetzung des Extrakts zu erfahren.

Der ersten Aufarbeitung (S. 46) analog wurden 80,0 gr. Extrakt dreimal hintereinander mit je 400 cc Petroläther mazeriert. Dabei gingen 36,0 gr Substanz in Lösung. Den Rückstand kochten wir sodann mit Benzol während 3 Stunden am Rückflußkühler aus. Es lösten sich offenbar nur noch kleine Mengen in Benzol; denn dieses färbte sich kaum merklich. Der Rückstand stellte, ähnlich dem frühern, ein hellgrünes, etwas hygroskopisches Pulver dar.

Die Mazerationsflüssigkeiten aus der ersten Aufarbeitung (Petroläther, Benzol und Chloroform) sowie die obigen (Petroläther und Benzol) wurden vereinigt und im Vakuum abgedampft. Der Rückstand betrug rund 59,0 gr und bestand aus einer fettigen, weichen, schwarzgrünen Masse. Eine Probe derselben wurde mit Alkohol 96 % versetzt und vorsichtig erwärmt. Dabei zeigte sich, daß

ein Teil zusammenballte und nicht in Lösung ging. Es wurde filtriert und der Filterrückstand (der alkoholunlösliche Teil) getrocknet. Er zeigte große Löslichkeit in Chloroform.

Wir stellten daher 10 cc einer 1 %igen Chloroformlösung her und adsorbierten sie auf $Al_2O_3$. Es entstand eine einzige breite Zone, zur Hauptsache wahrscheinlich Chlorophyll enthaltend; sie erschien im Tageslicht grün, unter der Quarzlampe braunrot. Beim Entwickeln mit Chloroform wanderte sie in der Säule rasch abwärts. Bevor sie austrat, wurde der Durchlauf untersucht. Er stellte eine klare, honiggelbe Flüssigkeit dar. Nach vorsichtigem Abdampfen auf dem Wasserbad hinterließ dieselbe einen hellgelben, kristallinen Rückstand. Unter dem Mikroskop zeigte er zahlreiche feine Nadeln.

Aus der Konsistenz und seinen übrigen Eigenschaften zu schließen, handelte es sich offenbar um einen wachsartigen Körper. Um faßbare Mengen desselben zu gewinnen, dabei aber große Aluminiumoxydsäulen möglichst zu vermeiden, schien eine Vorreinigung auf anderem Wege ratsam. Wir stellten mit der zu untersuchenden Masse eine konzentrierte Lösung in Chloroform her und gaben allmählich Alkohol hinzu. Im Eisschrank schied sich nach kurzer Zeit ein hellgrüner Bestandteil = A, aus, der durch Filtration abgetrennt wurde. Wir lösten A wiederum in wenig Chloroform und versetzten die Lösung mit genügend Alkohol. Dasselbe wiederholten wir ein drittes Mal. — Die Filtrate wurden vereinigt, im Vakuum eingeengt und der Rückstand mit wenig Chloroform aufgenommen. Mit Alkohol ließen sich dann nur noch geringe Mengen fällen.

Nun bereiteten wir uns mit Bestandteil A eine stark verdünnte Lösung in Chloroform, fügten ihr etwas Kohle zu und erwärmten das Ganze im Wasserbad. Wir filtrierten und engten das beinahe farblose Filtrat im Vakuum auf ein kleines Volumen ein. In dieser Lösung erzeugte absoluter Alkohol einen weißen flockigen Niederschlag. Dieser wurde auf einem Filter gesammelt und mit absolutem Alkohol gewaschen. Nach wiederholter fraktionierter Kristallisation aus Chloroform wurde die Substanz als rein befunden, d. h. die Schmelzpunkte der verschiedenen Fraktionen waren identisch, nämlich 61° korr. (Mikro-Smp. Bestg.-Apparat nach Kofler).

Die Ausbeute betrug ca 0,1 gr. Die Substanz, vermutlich ein Wachs oder ein Kohlenwasserstoff, war weiß und von kristalliner Struktur. Die Löslichkeiten des Körpers: Sehr leicht löslich in Chloroform, löslich in Aether und Benzol, warm löslich in Essigäther und Petroläther, ferner in siedendem Aceton. Die Substanz ist teilweise löslich in siedendem, absolutem Alkohol, unlöslich in Wasser, ebenso in verdünnter Natronlauge und verd. Salzsäure.

Um festzustellen, ob es sich um ein Sterin handelte, wurde die Reaktion nach Hager-Salkowski ausgeführt (lösen einer

Probe in Chloroform und versetzen mit dem gleichen Volumen konzentrierter Schwefelsäure; bei positivem Ausfall färbt sich die Chloroformlösung blutrot und geht in Purpurrot über). Die Reaktion verlief negativ.

Vor der Ausführung der Elementaranalyse wurde der Körper noch auf Stickstoff (Lassaigne) und Schwefel geprüft. Beide Reaktionen fielen negativ aus. Der Schmelzpunkt sowie die äußere Beschaffenheit hätten auf Palmitinsäure hinweisen können. Doch zeigte der Mischschmelzpunkt eine starke Depression, so daß Identität kaum in Frage kommt. Diese Prüfung wird nur ergänzungshalber erwähnt.

Die Substanz addiert, in Chloroform gelöst, kein Brom. Daß es sich bei ihr um eine gesättigte Verbindung handelt, zeigte sich ferner beim tropfenweisen Versetzen einer Benzollösung mit stark verdünnter Kaliumpermanganatlösung; letztere wurde dabei nicht entfärbt. [46])

Um genauern Aufschluß über die Natur des Stoffes zu erhalten, wurde versucht, ihn zu verseifen. Wir versetzten 0,08 gr der Substanz mit weingeistiger Kalilauge (0,05 gr KOH + 3 cc abs. Alkohol) und fügten 6 cc Benzol bei [47]). Nach einstündigem Kochen am Rückflußkühler gaben wir 6 cc heißes Wasser zu und kochten weitere 10 Minuten. Nachdem sich der Inhalt des Kölbchens in 2 Schichten getrennt — eine klare, farblose Benzolschicht und eine klare, gelblich gefärbte, wässerige Lösung — wurde letztere mit einer Pipette heiß abgezogen und in einen Scheidetrichter gebracht. Die heiße Benzollösung wurde nochmals mit 3 cc Alkohol und 6 cc frisch ausgekochtem Wasser versetzt, das Ganze während 10 Minuten erhitzt, hierauf die wässerige Lösung abgetrennt und mit der frühern vereinigt. Mit wenig Aether entzogen wir zuvor der wässerigen Lösung eventuell vorhandene unverseifbare Anteile und säuerten sodann mit konz. Salzsäure an: es erfolgte keine Ausfällung. Vor dem Ausäthern wurde der noch vorhandene Alkohol auf dem Wasserbad vertrieben. Die vereinigten Aetherausschüttelungen wurden mit Wasser gewaschen, darauf der Aether mit Natr. sulfuric. sicc. getrocknet und in einer gewogenen Porzellanschale abdestilliert. Es konnte kein Rückstand festgestellt werden, woraus hervorgeht, daß die Substanz keine verseifbaren Anteile enthielt.

Die Benzollösung schüttelten wir mehrmals in einem Scheidetrichter mit frisch ausgekochtem Wasser aus, trennten sie ab, brachten sie in eine tarierte Porzellanschale und vertrieben das Lösungsmittel durch Erhitzen auf dem Wasserbad. Der Rückstand hatte, nach dem Trocknen im Vakuum-Exsikkator über Schwefelsäure, an Menge kaum eingebüßt und sah dem ursprünglichen Stoffe ähnlich. Die Bestimmung des Schmelzpunktes ergab Uebereinstimmung mit dem früher gefundenen, nämlich 61° korr. Die Löslichkeiten waren dieselben geblieben.

Zwecks Acetylierung[48]) wurde die Substanz mit 3 cc Essigsäureanhydrid versetzt (wobei in der Kälte keine Lösung eintrat) und während 2 Stunden am Steigrohr erhitzt. Nach Zusatz von 6 cc heißen Wassers und nochmaligem Erwärmen während ¼ Stunde, brachten wir die Lösung in einen Scheidetrichter; beim Erkalten fiel ein weißer Körper aus. Wir neutralisierten mit konz. Natronlauge und schüttelten sodann mehrmals mit Aether aus. Die vereinigten Ausschüttelungen wurden mit Natr. sulfuric. sicc. getrocknet, der Aether schließlich abdestilliert. Nach dem Umkristallisieren aus einer Aether-Aceton-Mischung und darauffolgendem Trocknen im Schwefelsäure-Exsikkator wurde der Schmelzpunkt der kristallinen Substanz ermittelt; er lag wiederum bei 61° korr.

Aus der Feststellung, daß der fragliche Körper weder ein Verseifungsprodukt noch ein Acetat lieferte, folgt, daß es sich offenbar um einen Kohlenwasserstoff handelte.

**Elementaranalyse:**

| | |
|---|---|
| 3,079 mg Substanz gaben . . . . . | 3,999 mg $H_2O$ |
| | 9,636 mg $CO_2$ |
| Berechnet für $C_{21}H_{44}$ . . . . . | 85,1 % C; 14,9 % H |
| Gefunden . . . . . | 85,35 % C; 14,53 % H |

**Molekulargewichtsbestimmung:**

Dank seiner Löslichkeit in Kampfer konnte das Molekulargewicht des Körpers nach der Methode von Rast[49]) bestimmt werden (Fehlergrenze 5 bis 10 %). Die Berechnung erfolgte nach der Formel:

$$\text{Molekulargewicht} = \frac{40 \cdot a \cdot 1000}{b \cdot \Delta}, \text{ wobei:}$$

| | |
|---|---|
| $\Delta$ (Schmelzpunktdepression) . . . . | 11° |
| a = Substanz . . . . . | 0,0108 gr |
| b = Kampfer . . . . . | 0,1240 gr |
| Berechnet für $C_{21}H_{44}$: Mol. Gew. . . . | 296 |
| Gefunden: Mol. Gew. . . . | 316,7 |

Nach der Durchführung der beschriebenen Versuche lagen nur noch geringe Mengen an Substanz vor, die zu einer nähern Untersuchung des gefundenen Körpers nicht mehr ausreichten.

Bei der Abklärung der Frage, ob bereits eine Substanz im Pflanzenreich aufgefunden wurde, deren Eigenschaften Identität mit dem von uns aus Herba Euphrasiae isolierten Kohlenwasserstoff vermuten ließen, konnte festgestellt werden, daß Berssutski[50]) bei der „komplexen chemischen Erforschung der Früchte von Ferula Jaeschkeana Vatke“ (in mittelasiatischen Republiken verbreitete Pflanze) einem offenbar ähnlichen oder demselben Körper begegnet ist. Schmelzpunkte (61—63°) und Summenformeln ($C_{21}H_{44}$) der beiden Körper stimmen jedenfalls miteinander überein.

Die Aufarbeitung des Essigätherextrakts zeigte namentlich die Gegenwart von Gerbstoffen, die, gemäß den ausgeführten Reaktionen (S. 48), offenbar zur Gruppe der Catechingerbstoffe gehören. Es wurde ferner ein Kohlenwasserstoff (S. 48 u. f.) gewonnen, dem wahrscheinlich die Formel $C_{21}H_{44}$ zuzuschreiben ist.

In einem Vorversuch, der uns über das Extraktionsvermögen von Methylalkohol und Aethylalkohol gegenüber der mit Essigäther vorbehandelten Droge Aufschluß geben sollte, stellten wir fest, daß ersterer reichlicher extrahierte und der Droge rund 5 % mehr Extraktivstoffe entzog. Diese Feststellung veranlaßte uns, ein Methylalkoholextrakt herzustellen, von dem im folgenden die Rede sein soll.

### 2. Methylalkoholextrakt.

Bevor wir die mit Essigäther vorbehandelte Droge (S. 46) einer Extraktion mit Methylalkohol unterzogen, gaben wir uns in einigen orientierenden Vorversuchen Rechenschaft über die mögliche Verwendbarkeit anderer in Frage kommender Extraktionsmittel. Für die einzelnen Versuche gelangten je 10,0 gr der genannten vorextrahierten Droge zur Anwendung. Sie wurden mit je 100 cc Lösungsmittel heiß ausgezogen, das Extrakt heiß filtriert, das Filtrat auf ungefähr einen Fünftel seines Volumens im Vakuum eingeengt. Die qualitativen und quantitativen Ergebnisse sind aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich.

| Extraktionsmittel | Extrakt | Trockenrückstand |
|---|---|---|
| **Benzol** | a. **Warmes Filtrat:** hellgrün beim Erkalten Farbumschlag in hellbraun.<br>b. **Eingeengtes Filtrat:** dunkelbraun, erst klar, dann weiße Ausflockung. | 0,04 gr = 0,4 % |
| **Chloroform** | a. Grün: beim Erkalten Farbumschlag in hellbraun.<br>b. Dunkelbraun, klar: geringe kristalline Ausscheidung. | 0,03 gr = 0,3 % |
| **Aceton** | a. Dunkelgrün: beim Erkalten entsteht Trübung.<br>b. Ausscheidung einer gelblichen, kristallinen Masse. | 0,19 gr = 1,9 % |
| **Aether** | a. Hellgrün: keine Veränderung beim Erkalten.<br>b. Grün: Geringe, amorphe Ausflockung. | 0,03 gr = 0,3 % |
| **Petrolaether** | a. Hellgrün: klar.<br>b. Trübe, gelbgrüne Lösung. | 0,03 gr = 0,3 % |

Demnach zeigt Aceton das größte Extraktionsvermögen. Es folgt Benzol; quantitativ gleiche Werte wurden mit Aether, Chloroform und Petroläther erzielt. Die geringen Ausbeuten schienen uns eine Vorextraktion mit einem dieser Lösungsmittel nicht zu rechtfertigen. Daher wurde direkt mit Methylalkohol extrahiert. Zur Herstellung eines Methylalkoholextrakts gelangten 4 kg der mit Essigäther vorextrahierten Droge zur Anwendung. Wie früher bedienten wir uns auch hier der Soxhlet-Apparatur.

Eigenschaften und Verhalten der Extraktlösung: dunkelgrün gefärbter Auszug: beim Erkalten weißliche, kristalline Ausscheidung, wobei es sich vermutlich zur Hauptsache um Mannit handeln dürfte. Nach der Filtration wurde das Filtrat im Siko-Topf unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft.

Eigenschaften und Verhalten des Trockenextrakts: schwarzgrüner, brüchiger Rückstand, der sich im Mörser zu einem grünen Pulver zerreiben läßt. Er erwies sich als leicht hygroskopisch und wurde daher vorsichtig im Exsikkator aufbewahrt. Die Ausbeute an Trockenrückstand betrug 607 gr = 15 %.

Einige Vorversuche hinsichtlich Löslichkeit des Methylalkoholtrockenextrakts: Zur Anwendung gelangten je 0,5 gr feingepulvertes Trockenextrakt, die mit je 10 cc Lösungsmittel versetzt und auf dem Wasserbade erwärmt wurden. Nach Erkalten und Filtration wurde das Filtrat bei Zimmertemperatur verdunstet. Als Lösungsmittel verwendeten wir Aceton, Aether, Benzol, Chloroform, Essigäther, Petroläther, Spiritus rect. und Wasser, wobei sich einzig der Versuch mit Aether als eventuell verwertbar erwies. Bei der Mazeration von 0,5 gr Methylalkoholtrockenextrakt mit 10 cc Aether ergab sich folgender Bestand:

Die aetherische Lösung färbte sich dunkelgrün, ein unlöslicher Anteil hingegen war braun und harzig. Die filtrierte Lösung brachten wir bei Zimmertemperatur zum Verdunsten. Im Verdunstungsrückstand ließen sich bereits von bloßem Auge 2 Teile unterscheiden; nämlich ein dunkelgrüner, chlorophyllhaltiger Anteil und eine darin eingebettete gelblichweiße Masse.

Letztere erwies sich bei mikroskopischer Betrachtung als kristallin; die Kristalle waren scharf begrenzt und sargdeckelförmig. (Aehnlichen Formen sind wir bereits in einem ersten Essigätherextrakt begegnet). Auf Grund dieser Feststellungen führten wir eine **Aether-Mazeration von 75,0 gr Methylalkoholtrockenextrakt mit 1½ l Aether** durch. Analog dem Vorversuch erhielten wir eine klare, dunkelgrüne Lösung und als unlöslichen Anteil eine braune, harzige Masse. Da aus letzterer nichts isoliert werden konnte, wurde sie nicht weiter aufgearbeitet. Es wurden nun vorerst 150 cc der Lö-

sung im Vakuum auf ca. 25 cc eingeengt und diese in einer Kristallisierschale bei Zimmertemperatur zum Verdunsten gestellt. Der Verdunstungsrückstand (A) war dunkelgrün gefärbt und zeigte von bloßem Auge sichtbare, körnchenartige Einlagen. Unter dem Mikroskop ließ sich das Vorhandensein einer durch Chlorophyll noch stark verdeckten kristallinen Komponente einwandfrei feststellen. Am Rande konnte man bäumchenartige, kristalline, hellgrüngefärbte Formen erkennen.

Zur Entfernung des Chlorophylls wurde erst eine kleine Probe von A mit einigen Tropfen Benzol versetzt, wobei sich letzteres grün färbte. Nach dem Abgießen des Benzols verblieb ein hellgrüngefärbter Anteil (a), den wir seinerseits in einer Mischung von Aether + Alkohol absolut. 1:2 lösten und diese Lösung bei Zimmertemperatur verdunsten ließen. Unter dem Mikroskop wurden im Verdunstungsrückstand einzelne und in Büscheln angeordnete, scharfkantige Nadeln sichtbar.

Die verbleibende Menge des Verdunstungsrückstandes A wurde nun in gleicher Weise einer Reinigung mit Benzol unterzogen und darauf in der Aether-Alkohol. abs.-Mischung gelöst. Nach mehrmaliger Umkristallisation gelangten wir zum oben beschriebenen Ergebnis. Die Ausbeute an kristalliner Substanz war indessen so gering, daß keine weiteren Versuche mit ihr angestellt werden konnten.

Die restliche Menge der Aether-Mazeration aus 75 gr Methylalkoholextrakt, das heißt 1350 cc, wurde im Vakuum auf ca. 30 cc eingeengt mit der Absicht eventuell ausfallende Anteile abtrennen zu können. Diese Erwartung blieb unerfüllt. Wir ließen die dunkelgrün gefärbte Lösung bei Zimmertemperatur verdunsten. Der so gewonnene Rückstand ist also identisch mit A im Vorversuch. Zu seiner Reinigung erwies sich wiederum Benzol als geeignet. Der ungelöste Anteil a ist weißlich bis gelbgrün; seine Aufarbeitung wurde analog dem Vorversuche mit der Aether-Alkoholmischung vorgenommen, allerdings auch ohne zu einem brauchbaren Resultat zu gelangen.

Die Benzol-Waschflüssigkeiten (C) wurden vereinigt und in eine Kristallisierschale gebracht. Beim Stehenlassen bei gewöhnlicher Temperatur bildete sich nach einiger Zeit ein Depot. Die überstehende Benzolflüssigkeit wurde abgegossen und das Depot im Mikroskop untersucht. Es fanden sich darin zahlreiche, pfeilförmige Kristalle, die in den verschiedensten Farben polarisierten. Charakteristisch dabei war ein durch die Symmetrieebene der Kristalle erscheinender Streifen. In einem Tropfen Wasser, auf den

Objektträger gebracht, lösten sich die Kristalle. Die Frage, ob es sich um Mannitkristalle handeln könnte, erschien aus verschiedenen Gründen berechtigt:

1. Obschon die Mazeration des Methylalkoholextrakts, das zweifellos Mannit enthält, mit entwässertem Aether durchgeführt wurde, hätten durch Aufnahme von Feuchtigkeit aus der Luft geringe Mengen des in Wasser sehr leicht löslichen Mannits in die Mazeration treten können.
2. Spuren von Mannit sind selbst in Aether anhydr. löslich.
3. Die Löslichkeit des Mannit zusammen mit den sich im Methylalkoholextrakt vorfindenden Begleitstoffen hätte sich dem Aether gegenüber erhöhen können.
4. In Benzol ist Mannit etwas löslich; sein Uebertritt in die Waschflüssigkeit könnte daher nicht wundern.

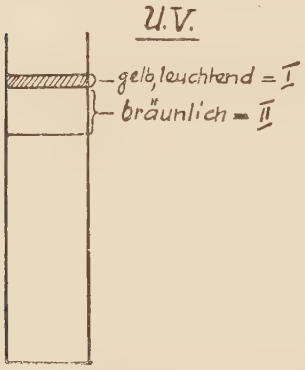
Aus der abgegossenen Benzollösung schieden sich nach einiger Zeit wiederum Kristalle aus, deren Eigenschaften den erstgewonnenen entsprachen.

Die beiden Depots wurden nun mit Aether anhydr. gewaschen. Resultat: die pfeilförmigen Kristalle blieben ungelöst. Die sodann durchgeführten Löslichkeitsversuche ließen auf Mannit schließen. Eine Schmelzpunktsbestimmung bestätigte diese Vermutung.

Den zum Waschen der Mannitkristalle verwendeten Aether anhydr. ließen wir bei gewöhnlicher Temperatur verdunsten. Als Rückstand erhielten wir neuerdings eine kristalline Komponente von ziemlich einheitlichem Aussehen, nämlich bäumchenartigen, polarisierenden Gebilden. Eine Probe davon erwies sich selbst bei starkem Erwärmen als wasserunlöslich; in Alkohol nur teilweise löslich. Es konnte sich also diesmal nicht um Mannit handeln.

Die verbliebene Menge der Benzolwaschflüssigkeiten C wurde bei Zimmertemperatur zum Verdunsten gestellt. Rückstand: dunkelgrün, stechend riechend; von bloßem Auge war darin der kristalline Anteil erkennbar. Dieser mußte also die beiden beschriebenen, kristallinen Komponenten noch nebeneinander enthalten. Es wurde nun portionenweise Aether anhydr. zugegeben und die anfangs grüne, später heller gefärbte Waschflüssigkeit dekantiert. Aus diesem Aether-Mazerat kamen nach dem Verdunsten bei mikroskopischer Betrachtung die uns bereits begegneten, bäumchenartigen und zu Rosetten zusammengeschlossenen Kristalle zum Vorschein. Sie waren indessen von Chlorophyll und amorphen Begleitstoffen stark verunreinigt. Zur weitern Reinigung bezw. Trennung entschlossen wir uns zur Durchführung einer Adsorption aus Benzol auf Aluminiumoxyd. Auf dem Wasserbade löste sich der Rückstand vollständig in Benzol. Die Lösung wurde durch eine Säule von 1 cm

Durchmesser und 11 cm Länge geschickt und das entstandene Chromatogramm mit einer Alkohol-Benzol-Mischung gleicher Teile entwickelt, wobei das Filtrat farblos abfloß. Unter der Quarzlampe zeigte sich folgendes Säulenbild:




Die beiden Zonen wurden in gewohnter Weise abgetrennt und mehrmals mit der Alkohol-Benzol-Mischung eluiert. Aus beiden Eluaten erhielten wir kristalline Anteile, deren Menge indessen so gering war, daß auf eine Aufarbeitung derselben verzichtet werden mußte.

Um auf anderem Wege faßbare Mengen eventuell vorhandener kristalliner Substanzen zu gewinnen, lösten wir als Vorversuch 10,0 gr Methylalkoholextrakt in 100 cc Wasser. Abgesehen von einem dunkeln, schmierigen Rückstand, der unberücksichtigt blieb, trat nahezu völlige Lösung ein.

Die dunkelgrün gefärbte Lösung A wurde nun mehrmals mit einer genügenden Menge Aether ausgeschüttelt; letzterer färbte sich dabei erst dunkel-, später hellgrün.

**Vereinigte Aetherausschüttelungen = $A_1$.**

$A_1$ wurde, nachdem es zuvor mit Natr. sulfuric. sicc. entwässert worden war, im Vakuum auf einen Drittel seines Volumens eingeengt und in den Eisschrank gestellt. Es schied sich nach einiger Zeit ein weißlicher Bestandteil aus, der sich als anorganischer Körper erwies (er ließ sich nicht veraschen) und daher nicht näher untersucht wurde.

Die nach der Aether-Ausschüttelung verbliebene **Lösung $A_2$** war nahezu chlorophyllfrei und dunkelrotbraun gefärbt.

**Reaktionen mit $A_2$:**

1. Probe mit einem Tropfen $FeCl_3$ versetzt: dunkelgrüner Niederschlag. Der stark adstringierende Geschmack der Lösung deutete ebenfalls auf reichliches Vorhandensein an Gerbstoff.

2. Eine Probe wurde erhitzt und einige Tropfen verdünnter Salzsäure zugegeben. Nach einiger Zeit und unter ständigem Erhitzen färbte sich die Lösung blaugrün; beim Erkalten fiel ein blaugrüner Körper aus.

3. Wird zuerst mit $FeCl_3$ gefällt und dann mit der abfiltrierten Lösung die 2. Probe durchgeführt, so fällt letztere negativ aus, d. h. es tritt keine Ausfällung des blauen Farbstoffes ein. Es fragt sich demnach, ob das Eisenchlorid an sich dessen Bildung verhindert oder ob die den blauen Farbstoff liefernde genuine Substanz schon durch $FeCl_3$ gefällt wird.

Um diese Frage zu entscheiden wurde, wie im folgenden beschrieben, $A_2$ nach der **Bleimethode** erst vom Gerbstoff befreit, um dann auf Gegenwart oder Abwesenheit der farbstoffliefernden Komponente prüfen zu können.

Einige cc von $A_2$ wurden mit der gleichen Menge Aqua dest. verdünnt, die Mischung filtriert, das Filtrat erwärmt und darauf mit einer Bleiacetat-Lösung 1:10 in geringem Ueberschuß versetzt. Der so entstandene, gelbgrüne Niederschlag wurde durch Filtration abgetrennt. (Probe des Filtrats + Bleiacetat-Lösung: negativ).

Im erwärmten Filtrat entstand dann nach Zusatz von Bleiessig ein gelber Niederschlag, der wiederum abgetrennt wurde. (Probe des Filtrats + Bleiessig: negativ).

Das Filtrat zeigte nach Ausführung der beiden Fällungen nur noch schwach gelbliche Färbung. Die Entbleiung erfolgte mittels Durchleiten eines gleichmäßigen Schwefelwasserstoff-Stromes durch die leichterwärmte Lösung und nachfolgender Trennung des entstandenen Bleisulfid-Niederschlages durch Filtration. (Filtrat + $H_2S$: negativ). Reaktion des Filtrats: schwach sauer.

**Versuche mit dem Filtrat.**

1. Probe mit $FeCl_3$ versetzt: es traten weder Farbänderung noch Fällung ein.

2. Eine Probe des Filtrats wurde erhitzt; auf Zugabe einiger Tropfen verdünnter Salzsäure entstand bei weiterem Erhitzen in rascher Folge erst eine hell- dann dunkelblaue Färbung, was als Zeichen der Gegenwart eines Chromogens gelten konnte. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß bereits vor der Entbleiung mit $H_2S$ einige cc des Filtrats, mit HCl dil. erhitzt, die typische Blaufärbung ergaben.

Es darf somit angenommen werden, daß durch die Gegenwart von Eisenchlorid der farbstoffliefernde Körper verändert oder gebunden wird.

Unser Interesse richtete sich nun insbesondere darauf, Näheres über die Beschaffenheit und das Verhalten des offenbar glykosidischen Chromogens in Erfahrung zu bringen, also jenes Inhaltsstoffes von Euphrasia, von dem M. Braecke[19]) vermutet hatte, es handle sich wahrscheinlich um Aucubin. Es ist naheliegend anzunehmen, daß durch das Erhitzen mit verdünnter Salzsäure eine energische

Hydrolyse der fraglichen Substanz bewirkt wurde, wobei es sich bei dem blauen Farbstoff um ein Spaltprodukt (Aglukon) handeln dürfte. Auf Grund der Vorversuche konnte ferner der Schluß gezogen werden, daß sich die Bleimethode zur Aufarbeitung einer größern Extraktmenge aller Voraussicht nach eignen würde.

---

**Aufarbeitung von 400,0 gr Methylalkohol-Trockenextrakt.**

Auf Grund der Ergebnisse unserer Vorversuche (S. 56) wurden nun 400,0 gr Methylalkoholextrakt zu 10 % in Wasser gelöst; es trat nahezu völlige Lösung ein. Diese 4 kg Extraktlösung bilden die Ausgangslösung. Zur Entfernung des Chlorophylls wurde sie in einem großen Scheidetrichter mit Aether solange ausgeschüttelt, bis sich letzterer nur noch schwach grün färbte. Nach der Ausschüttelung lagen Verhältnisse vor, die dem Versuch im Kleinen entsprachen. Im Folgenden bezeichnen wir mit $A_1$ = die vereinigten, dunkelgrün gefärbten Aetherausschüttelungen, die wir nicht näher untersuchten und mit

**$A_2$ = die von Chlorophyll befreite, klare, rotbraune Lösung.**

**Aufarbeitung von $A_2$.**

Nachdem die zur Fällung notwendige Menge von 10%iger Bleiacetatlösung mit einer Probe von $A_2$ bestimmt worden war, wurde $A_2$ mit einem kg 10 %iger Bleiacetat-Lösung versetzt und vom entstandenen Niederschlag abgenutscht. Letzterer wurde zuerst mit Bleiacetat-Lösung und dann mit Wasser gewaschen, bis das Waschwasser neutral reagierte, zwecks gründlichen Abtrennens wiederholt zentrifugiert und schließlich auf Tontellern getrocknet:

**Bleiacetat-Fällung = a.**

**a** stellte ein hellgrüner, leicht pulverisierbarer Niederschlag dar, den wir im Exsikkator aufbewahrten.

Das Filtrat mitsamt den konzentrierten Waschwässern wurde nach vorausgegangener Mengenbestimmung mit 50,0 gr Sol. Plumbi subacetici duplex versetzt und der entstandene Niederschlag in gleicher Weise wie vorher die Bleiacetat-Fällung behandelt:

**Bleiessig-Niederschlag = b.**

Die Fällung **b** war gelb gefärbt, ebenfalls pulverisierbar und wurde, wie **a**, im Exsikkator aufbewahrt.

Das Filtrat, vereinigt mit den konzentrierten Waschwässern, entbleiten wir im Schwefelwasserstoff-Strom und trennten mittels Nutsche und Zentrifuge ab. Den Schwefelwasserstoff vertrieben wir mit einem $CO_2$-Strom aus dem Filtrat. Der entstandene Bleisulfid-Niederschlag wurde sorgfältig aufbewahrt.

**Entbleites Filtrat = c.**

**Aufarbeitung von a.** (Weitere Untersuchung s. S. 78 u. f.)

Die Bleiacetat-Fällung wurde zunächst zweimal in einer genügenden Menge 70 %igen Alkohols aufgeschwemmt und so während längerer Zeit auf dem Wasserbade ausgekocht. Nach mehrmaligem Zentrifugieren gelangten wir zu einer klaren, gelblichgrünen Lösung, aus der zunächst mit Hilfe von $H_2S$ noch eine Spur mitgerissenen Bleis entfernt werden konnte. Nach wiederholter Filtration vertrieben wir den Schwefelwasserstoff mit $CO_2$. Es lag nunmehr eine schwach gelb gefärbte, klare Lösung vor:

**Alkoholische Auskochung von a = $\alpha$**

**Versuch mit $\alpha$** (Weitere Untersuchung s. S. 61 u. f.):
Probe erhitzt; nach Zusatz einiger Tropfen HCl dil. trat bei weiterem Erwärmen Blaufärbung ein. Nach dem Erkalten fiel ein blaugrüner Körper aus, der sich mit Amylalkohol ausschütteln ließ.

Die Bleiacetat-Fällung (a) wurde nun wiederum in 70 %igem Alkohol gleichmäßig suspendiert und diese Suspension im Schwefelwasserstoff-Strom entbleit. Es sei nicht vergessen, daß wir sämtlichen bei den verschiedenen Entbleiungen gewonnenen Bleisulfid-Niederschläge aufhoben, vereinigten und auswuschen. (Was im besondern den Bleisulfid-Niederschlag aus **a** betrifft, sei ergänzungshalber erwähnt, daß bei seinem Stehenlassen in einem verschlossenen Erlenmeyerkolben sich nach einiger Zeit ein deutlicher Geruch nach bittern Mandeln entwickelte. Der Nachweis von HCN verlief indessen negativ).

Beim Trennen vom Bleisulfid (Nutsche) floß ein dunkelrotbraunes, völlig klares Filtrat ab. Es wurde mit einem $CO_2$-Strom vom Schwefelwasserstoff befreit und darauf im Siko-Topf unter vermindertem Drucke zur Trockne gebracht. Der Rückstand, d. h. **das mit Bleiacetat Fällbare,** war ein hellbraunes Pulver. Wir bezeichnen diesen Anteil mit **1.**

**Versuch mit Fraktion 1:** In Wasser löslich. Die wässerige Lösung gab mit $FeCl_3$ R. einen intensiven, grünen Niederschlag, was auf reichliches Vorhandensein an Gerbstoff hinwies.

---

**Aufarbeitung des Bleiessig-Niederschlags b.** (Weitere Untersuchung S. 83 u. f.):

Dieser Körper wurde auf genau dieselbe Art behandelt wie **a.** Nach dreimaliger Auskochung mit 70 %igem Alkohol und erfolgter Abtrennung entstand beim Durchleiten von $H_2S$ ebenfalls ein geringer Niederschlag von Bleisulfid.

**Die alkoholische Auskochung von b** soll mit $\beta$ bezeichnet werden. Sie war gelb gefärbt und völlig klar.

**Versuch mit** $\beta$ (Weitere Untersuchung s. S. 61 u. f.):
Die hydrolytische Spaltung verlief wie mit $\alpha$ positiv: Es entstand in der Probe eine intensive Blaufärbung. Die Ausschüttelung mit Amylalkohol gelang ebenfalls spielend.

In gleichmäßiger Suspension in 70 %igem Alkohol wurde **b** mit einem $H_2S$-Strom zerlegt und vom entstandenen Bleisulfid-Niederschlag abgetrennt. Das Filtrat war klar und von heller, rotbrauner Farbe. Nach erfolgter Behandlung mit $CO_2$ wurde die Lösung im Siko-Apparat unter vermindertem Drucke eingedampft. Der Rückstand, der **das mit Bleiessig Fällbare** darstellt, war leicht pulverisierbar und von dunkelbraunem Aussehen; er wurde, wie **1**, im Exsikkator aufbewahrt.

**Versuche mit Fraktion 2:** In Wasser löslich.
Wässerige Lösung + $FeCl_3$ R: grüner Niederschlag, analog demjenigen bei **1** (S. 59). Hydrolyse mit HCl dil.: negativ.

---

**Aufarbeitung von c.**

Das Abdampfen des **entbleiten Endfiltrats** nahmen wir ebenfalls im Siko-Topfe vor, und zwar, um die Bildung von Natriumacetat zu vermeiden, ohne vorangegangene Neutralisation. Als Rückstand lag eine braune, harzige Masse von honigartiger Konsistenz vor. Um diese Fraktion möglichst in eine zur Verarbeitung geeignetere Form überzuführen, lösten wir sie in einer genügenden Menge gleicher Teile Wasser und Alkohol und engten diese Lösung diesmal in einem Jenaer-Topf unter vermindertem Drucke ein. Der Unterschied lag nun lediglich darin, daß im Rückstand eingeschlossene Kristalle sichtbar wurden; im übrigen hatte die Masse ihre Konsistenz beibehalten. Wir bezeichneten diese Fraktion mit **3**. Sie stellt **die mit Bleiacetat und Bleiessig nicht fällbaren Bestandteile** des Methylalkoholextrakts dar.

**Versuch mit Fraktion 3.** (Weitere Untersuchung s. S. 61 u. f.):
Eine Probe von **3** löste sich in Wasser mit dunkelbrauner Farbe. Um die zu erwartende, positive Farbreaktion bei der hydrolytischen Spaltung besser feststellen zu können, entfärbten wir die Probe mit Carbo adsorbens. Das schwach hellbraune Filtrat, mit HCl dil. erhitzt, zeigte die typische, sehr intensive Blaufärbung. Der sich später bildende, blauschwarze Körper ging beim Ausschütteln mit Amylalkohol in diesen über.

---

Die Bleisulfid-Niederschläge, im Laufe der Analyse gewonnen, und, wie bereits erwähnt, vereinigt, wurden ihrerseits in 70 %igem Alkohol aufgeschwemmt und auf dem Wasserbade ausgekocht. Die Trennung geschah durch Filtration auf einer Porzellan-Nutsche (B 4). Das Filtrat war eine klare, gelbe Lösung:

**Alkoholische Auskochung der Bleisulfid-Niederschläge = $\gamma$**

**Versuch mit $\gamma$:** (Weitere Untersuchung s. S. 61 u. f.):
Die hydrolytische Spaltung fiel auch hier positiv aus; in der Probe entstand beim Erhitzen mit HCl dil. eine dunkelgrüne Färbung mit nachfolgender Fällung.

---

Es war naheliegend, sich in erster Linie darüber Klarheit zu verschaffen, in welchen der zahlreichen, auf dem Wege der Bleimethode gewonnenen Fraktionen das Chromogen vorhanden war. Die Ermittlung seiner Gegenwart gestaltete sich insofern höchst einfach, als dazu nur die Ausführung der Farbreaktion notwendig war. Zusammenfassend läßt sich aus dem bisher Beschriebenen feststellen, daß der farbstoffliefernde Körper weder durch Bleiacetat, noch durch Bleiessig gefällt wird: er bleibt in Lösung oder wird beim Fällen lediglich „mitgerissen". Dementsprechend fiel sein Nachweis in den folgenden Fraktionen positiv aus:

Fraktion $\alpha$ = Alkoholische Auskochung der Bleiacetat-Fällung. (S. 59).
Fraktion $\beta$ = Alkoholische Auskochung des Bleiessig-Niederschlags. (S. 59).
Fraktion $\gamma$ = Alkoholische Auskochung der Bleisulfid-Niederschläge. (S. 61).
Fraktion 3 = Rückstand aus entbleitem Endfiltrat c. (S. 60).

---

## Versuche zur Gewinnung des Chromogens aus den Fraktionen $\alpha$, $\beta$, $\gamma$ und 3.

**Aufarbeitung der Fraktion $\alpha$.**

Die alkoholische Auskochung der Bleiacetatfällung wurde in einem Jenaertopf zur Trockne gebracht. Der Rückstand war amorph, harzig, von gelblicher Farbe und wog 2,5 gr (= 0,6 % bezogen auf die gesamte Extraktmenge). Das Lösen desselben geschah in 5 Stufen, wobei wir jeweilen ca. 30 cc des Lösungsmittels während einiger Zeit unter Umschwenken und ohne zu erwärmen auf den Rückstand einwirken ließen:

| Lösungsmittel: | Lösung: | Hydrolyse mit HCl dil. |
|---|---|---|
| 1. Absoluter Alkohol | klar, braun | positiv |
| 2. Spirit. rect. 96 % | klar, schwachgelb | positiv |
| 3. Alkohol 40 % | klar, gelb | negativ |
| 4. Aqua dest. | klar, farblos | negativ |

5. Ein geringer, zurückgebliebener Anteil wurde mit Chloroform herausgelöst und diese Lösung im Exsikkator zum Verdunsten gebracht. Der amorphe Rückstand wurde nicht näher untersucht. Ueber die weitere Aufarbeitung der Lösungen 1. bis 4 s. S. 62 u. f.

**Aufarbeitung der Fraktion $\beta$.**

Die alkoholische Auskochung des Bleiessigniederschlags wurde in derselben Weise wie $\alpha$ behandelt. Wir gelangten zu einem amorphen, harzigen, gelblich-braunen Rückstand. Die Ausbeute betrug 3,0 gr (= 0,75 %). Hier ließ sich der gesamte Rückstand in 3 Stufen völlig lösen:

| Lösungsmittel: | Lösung: | Hydrolyse mit HCl dil. |
|---|---|---|
| 1. Absoluter Alkohol | klar, dunkelbraun | positiv |
| 2. Spirit. rect. 96 % | klar, braun | positiv |
| 3. Aqua dest. | klar, dunkelbraun | positiv |

Ueber die weitere Aufarbeitung der Lösungen 1. bis 3. s. S. 62 u. f.

**Aufarbeitung der Fraktion $\gamma$.**

Aus dieser Auskochung erhielten wir auf die bei $\alpha$ und $\beta$ (S. 61) beschriebene Art wiederum einen amorphen, harzigen Rückstand. Er war von dunkel- bis hellbrauner Farbe und enthielt kristalline Einschlüsse. Letztere bestanden aus kleinen, von bloßem Auge sichtbaren Nadeln und Rosetten. Das fraktionierte Lösen geschah wiederum in 3 Stufen:

| Lösungsmittel: | Lösung: | Hydrolyse mit HCl dil. |
|---|---|---|
| 1. Absoluter Alkohol | klar, hellgelb | positiv |
| 2. Spirit. rect. 96 % | klar, dunkelbraun | positiv |
| 3. Aqua dest. | klar, dunkelbraun | positiv |

Ueber die weitere Aufarbeitung der Lösungen 1. bis 3. s. S. 62 u. f.

**Aufarbeitung von Rückstand 3 aus entbleitem Endfiltrat c.**

Die Art der Gewinnung und die Beschaffenheit dieses Rückstandes wurden bereits besprochen. Darauffolgend gelang es, diese klebrig-harzige Masse, diesmal unter gelindem Erwärmen auf dem Wasserbade, in 4 Stufen zu lösen:

| Lösungsmittel: | Lösung: | Hydrolyse mit HCl dil. |
|---|---|---|
| 1. Absoluter Alkohol | klar, goldgelb | positiv |
| 2. Methylalkohol | klar, dunkelrotbraun | kaum wahrnehmbare Farbänderung |
| 3. Spirit. rect. 96 % | klar, hellrotbraun | positiv |
| 4. Alkohol 50 % | dunkel, undurchsichtig | kaum wahrnehmbare Farbänderung |

Wir gelangten somit zu 10 verschiedenen Lösungen, die mit Sicherheit das Chromogen enthielten, zu 2 Lösungen, in denen es wahrscheinlich nur in Spuren vorhanden war und zu 2 chromogenfreien Lösungen. Es sei betont, daß dort, wo die hydrolytische Spaltung mit verdünnter Salzsäure positiv verlief, die Blaufärbung eine äußerst intensive war. Wie es sich bei spätern Versuchen herausstellen sollte, genügten selbst Spuren des Chromogens, um noch eine schöne Blaufärbung zu erzielen. Hier sei als Beispiel die alkoholische Lösung 2 der Aufarbeitung $\gamma$ (Auskochung der Bleisulfid-

niederschläge S. 62) herausgegriffen. Ein Tropfen dieser Lösung wurde mit 2 cc Spirit. rect. 96 % verdünnt, erwärmt und alsdann 1 Tropfen HCl dil. hinzugefügt. Beim darauffolgenden Erhitzen färbte sich die Probe tief dunkelblau. Nach dem Erkalten fiel ein blauschwarzer Körper aus. In Fällen, wo der Nachweis des Chromogens durch bereits stark gefärbte, insbesondere wässerige Lösungen erschwert war, wurde zunächst mit wenig Carbo adsorbens aufgehellt. Die Beurteilung der Farbreaktion gestaltete sich dann stets ohne Schwierigkeiten.

Die 10 Lösungen mit positiver Reaktion wurden während 2 Wochen in Exsikkatoren über Kieselgel zur Kristallisation gestellt. Das Verhalten der Lösungen war insofern einheitlich, als sich sehr bald in allen Kristalle von auffallenden Formen bildeten: Prismen, Rosetten, Nadeln. Die Struktur dieser Kristalle deutete bereits auf Mannit. Es gelang vorerst durch Abgießen sie von der Mutterlauge zu trennen. Die Kristalle wurden mit Aether gewaschen und aus Alkohol umkristallisiert. Die Löslichkeiten sprachen ebenfalls für Mannit. Der Versuch einer Hydrolyse in alkoholischer Lösung verlief negativ. Dagegen war die Reaktion mit $CuSO_4$ und NaOH positiv. Der Schmelzpunkt lag bei 169° unkorr., womit der Nachweis von Mannit als erbracht angenommen werden konnte.

Mannitkristalle fanden sich nach dem Verdunsten der Lösungsmittel bei allen 10 Versuchen eingeschlossen in einem amorphen, dunkel- bis hellbraunen, harzigen Rückstand, der nun als eigentlicher Chromogenträger angesprochen werden konnte. Ueber Kristallisationsversuche mit diesem sei nachfolgend berichtet.

**Lösung 1 von Fraktion** $\beta$ (S. 62) lieferte nach völligem Verdunsten des absoluten Alkohols einen harzigen Rückstand, in welchem sich unter dem Mikroskop beim Polarisieren „Fadenkreuzkristalle" neben dem Mannit erkennen ließen. Der Rückstand, ca. 0,9 gr wurde in 35 cc Spirit. rect. 96 % gelöst und bei einer Temperatur von minus 18° C aufbewahrt. Nach einiger Zeit flockte ein weißlicher Körper aus. Die überstehende Mutterlauge wurde abgegossen, eingeengt und wiederum der Kälte ausgesetzt. Dasselbe wiederholten wir zweimal. Die Ausflockungen erwiesen sich als amorph; sie waren in Wasser löslich. Beim Erhitzen dieser Lösung mit HCl dil. trat keine Farbreaktion ein. Eine Probe der Mutterlauge hingegen reagierte beim Hydrolysieren mit intensiver Blaufärbung. Um eventuell eine Fällung zu erzeugen, wurde der Mutterlauge Essigaether zugesetzt. Eine Ausflockung trat aber erst auf, als wir dieser Alkohol-Essigaether-Mischung Aether zufügten. Die so erhaltene Ausflockung verhielt sich wie die vorherigen. Das Chromogen ließ sich wiederum in der Lösung nachweisen. Letztere lieferte nach langsamem Verdunsten der Lösungsmittel den amorphen, harzigen Rückstand.

Ca. 0,01 gr des Rückstandes lösten wir in einer Mischung von je 2,0 gr Essigäther und absolutem Alkohol. Mit dieser Lösung wurde eine Versuchs-Adsorption auf $Al_2O_3$ anhydr. durchgeführt.

Nach dem Entwickeln zeigte das Chromatogramm im U.V.-Licht folgendes Bild:

Die Zonen I, II und III wurden getrennt und mit der Mischung Essigäther-Alkohol abs. warm eluiert. Die Eluate 1 bis 3 waren gelb gefärbt.

Probe von Eluat 1 + HCl dil.: Entfärbung und darauf intensive Blaufärbung.
Probe von Eluat *2* + HCl dil.: Blaufärbung.
Probe von Eluat *3* + HCl dil.: Entfärbung; keine Blaufärbung.

Aus den Eluaten 1 und *2* erhielten wir nach langsamem Verdunsten im Eisschrank wiederum amorphe, harzige Rückstände. Das Aussehen dieses Versuchs-Chromatogramms erinnerte an dasjenige aus der Aufarbeitung des Essigäther-Extrakts (s. S. 38). Es wurden daher nachträglich Proben der Eluate aus den diesbezüglichen 5 Zonen (einschließlich dem Filtrat) auf das eventuelle Vorhandensein des Chromogens hin untersucht, wobei einzig Zone I bei der Hydrolyse mit HCl dil. intensive Blaufärbung zeigte. Das Chromogen war also auch im Essigätherextrakt vorhanden gewesen. Das Eluat aus der genannten Zone I, ca. 50 cc, dampften wir daher unter vermindertem Drucke auf ungefähr einen Drittel seines Volumens ein und stellten dieses Konzentrat in den Eisschrank. Auch hier flockte nach einiger Zeit ein weißer, amorpher Körper aus und die Aufarbeitung konnte in derselben Weise geschehen, wie eingangs beschrieben. Als Rückstand lag wiederum ein amorpher, harziger, grünlicher Körper vor. Er hatte cumarinähnlichen Geruch und ergab bei der hydrolytischen Spaltung die bekannte Farbreaktion.

Aus dem Gesagten geht bereits hervor, daß diese Zone I nicht einheitlich war, was sich auch beim nun folgenden Lösen des chromogenhaltigen Rückstandes mit Essigäther bestätigte.

a. Ein Essigaether-löslicher Anteil (ca. ⅔) war hellgrün gefärbt. Eine Probe der Lösung gab bei der Hydrolyse mit HCl dil. eine intensive Blaufärbung. Aus der Lösung ließ sich in keiner Weise eine kristalline Substanz gewinnen.
b. Ein Essigaether-unlöslicher Anteil bestand aus hellbraunen Brocken, die sich in Spirit. rect. 96 % beim Erwärmen mit gelber Farbe lösten.
Probe + HCl dil.: negativ.
Probe + $FeCl_3$: Grünfärbung; vermutlich Gerbsäure.
Keine Kristallisation.

Aus **Lösung 3 von Fraktion** $\gamma$ (S. 62) fiel nach einiger Zeit beim Stehenlassen ein brauner, amorpher Körper aus. Trennung durch Filtration. Der Stoff war in Wasser schwer löslich; Hydrolyse mit HCl dil.: negativ. Er wurde nicht näher untersucht. — Das Filtrat wurde bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach dem Verdunsten des Wassers lagen Verhältnisse vor, die denjenigen aus den beschriebenen Versuchen entsprachen.

Ca. 7 cc waren der wässerigen Lösung entnommen und auf dem Wasserbad zur Trockne gebracht worden. Der braune, harzige Rückstand wurde am Rückflußkühler während je 1 Stunde nacheinander mit folgenden Lösungsmitteln ausgekocht:

| **Lösungsmittel:** | **Lösung:** | **Hydrolyse mit HCl dil.:** |
|---|---|---|
| Abs. Alkohol | klar, gelb | positiv |
| Spir. rect. 96 % | klar, hellgelb | positiv |
| Essigäther | klar, gelblich | positiv |
| Aceton | klar, farblos | negativ |
| Benzol | klar, farblos | negativ |
| Chloroform | klar, gelb | schwach positiv |

Die geringen Rückstände, die aus diesen Auskochungen gewonnen wurden, ließen eine Aufarbeitung nach diesem Schema als ungeeignet erscheinen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß das Chromogen allen Kristallisationsversuchen widerstand und stets nur als amorpher Stoff erhalten wurde. Erschwerend trat dabei die Gegenwart der verhältnismäßig großen Menge an Mannit hinzu. Es erschien daher wünschenswert, einen Weg zu finden, der es erlaubte, diese Kristalle möglichst quantitativ abzutrennen, ohne daß dabei das Chromogen an Menge Einbuße erleiden sollte. Zu diesem Zweck wurde der Rückstand aus Lösung 3 von Fraktion $\gamma$ (S. 62) in Alkohol 50 % gelöst. Mit Essigäther erzielten wir in dieser Lösung eine Fällung. Bei der Nachprüfung ergab sich, daß das Chromogen in Lösung geblieben war; die Fällung erwies sich nach dem Waschen mit Essigäther als chromogenfrei. Aus der Lösung erhielt man nach dem Verdunsten nunmehr einen amorphen Rückstand mit nur einer sehr kleinen Anzahl kristalliner Einschlüsse.

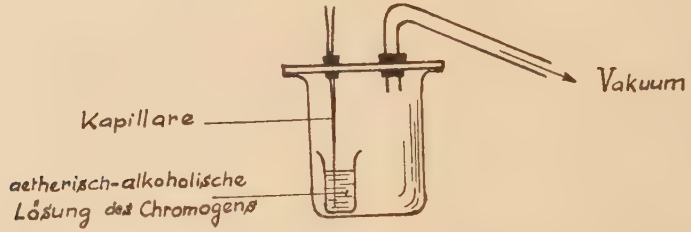
Auf Grund dieser Feststellungen lösten wir sämtliche chromogenpositiven Rückstände in Spir. rect. 96 %, vereinigten die Lösungen und engten sie im Vakuum auf ca. einen Drittel ihres Volumens ein. Darauf wurde mit Essigäther gefällt. Analog dem Vorversuch konnte auch hier eine mannitarme Chromogenlösung erhalten werden.

Die Fällung wurde nicht näher untersucht. Die Lösung brachten wir im Vakuum zur Trockne und lösten den Rückstand in Wasser. Zum Versuch einer weitern Abtrennung führten wir in

dieser wässerigen Lösung eine Perforation mit Essigäther durch. Das Perforat war chromogenfrei; überdies ließen sich keine kristallinen Anteile aus ihm gewinnen.

Aus der wässerigen Lösung erhielten wir beim Eindampfen wiederum den harzigen Körper. Beim Lösen in Spir. rect. 96 % zeigte es sich, daß er nur noch zu ungefähr 75 % alkohollöslich war, wobei das Chromogen in Lösung ging.

Weitere Fällungsversuche mit Aceton, Benzol und Petroläther verliefen ergebnislos; mit Aether dagegen gelang eine Ausfällung, die zur Aufhellung der noch braun gefärbten Lösung etwas beitrug. Letztere war — vereinigt mit der Waschflüssigkeit des Niederschlags — von hellgelber Farbe und ergab bei der Spaltung mit HCl dil. eine intensive Blaufärbung. Nach dieser Vorbehandlung wurde die Lösung in ein Becherglas gegossen, dieses in einen Jenaertopf gebracht und auf die aus untenstehender Abbildung ersichtlichen Weise eingedampft.




Wir erhielten so einen hellbraunen, harzigen Rückstand, der sich in Alkohol völlig löste. Es gelang nicht, aus dieser Lösung irgendeine Substanz zu kristallisieren. Im amorphen Rückstand zeigten sich indessen unter dem Mikroskop deutliche Ansätze zur Kristallisation. Beim Polarisieren leuchteten zahlreiche, rundliche Einschlüsse auf. Etwas deutlicher traten letztere zutage, als versucht wurde, aus Essigäther mit Zusatz von Alkohol 96 % zu kristallisieren.

---

## Versuche zur Gewinnung des Chromogens durch Adsorption.

Nachdem die üblichen Methoden zur Reindarstellung des Chromogens kein befriedigendes Ergebnis gezeitigt hatten, entschlossen wir uns zur Durchführung einer Adsorption. Es sollten zuerst das geeignete Lösungsmittel und ferner das günstigste Adsorbens gefunden werden. — Die Menge des verbleibenden, chromogenhaltigen Rückstandes betrug 5,2 gr.

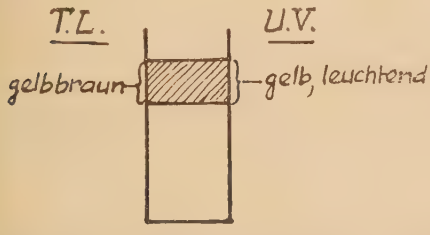
1. **Probe-Chromatogramm von 0,1 gr** auf $Al_2O_3$ anhydr. aus alkoholischer Lösung. Ergebnis unbefriedigend, da Zonen verschwommen.

2. **Probe-Chromatogramm von 0,1 gr** auf **$Al_2O_3$ anhydr.** aus Aceton-Alkohol-Mischung. Zum Lösen war ein Zusatz von ca. 10 % Alkohol 96 % notwendig.

Chromatographisches Bild im U.V.-Licht:

Nach der Trennung der Zonen, Elution mit Aqua dest. Probe des Eluates aus Zone I mit HCl dil. versetzt und erhitzt: positiv. — Probe des Eluates aus Zone II mit HCl dil. versetzt und erhitzt: schwach positiv. Daraus folgt, daß das Chromogen zur Hauptsache in Zone I adsorbiert wurde.

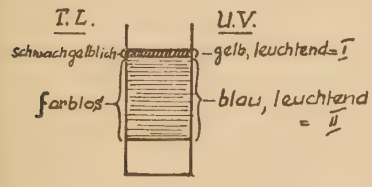
3. **Probe-Chromatogramm von 0,1 gr** auf **Floridin XXF** aus Aceton-Alkohol (10 %)-Mischung.




Auf Floridin XXF wurde eine einzige Zone gebildet. Ihr alkoholisches Eluat war schwach gelb gefärbt. Die hydrolytische Spaltung mit HCl dil. fiel negativ aus. Eine Probe des klaren, hellgelben Durchlaufs gab dagegen beim Erhitzen mit HCl dil. eine intensive Blaufärbung. Somit schien eine Adsorption auf Floridin XXF im Sinn einer Vorreinigung angezeigt. Wir lösten den verbliebenen Rückstand von ca. 5,0 gr in 300 cc einer Aceton-Alkohol (10 %)-Mischung. Nach der Adsorption auf Floridin XXF lag ein dem Vorversuche analoges Säulenbild vor. Wir schickten noch soviel einer Mischung gleicher Teile Aceton mit Alkohol — im ganzen 150 cc — durch die Säule, bis eine Probe aus dem abtropfenden Durchlauf mit HCl dil. keine positive Reaktion mehr gab.

Wir trennten ferner die gelbe Zone ab und zerlegten den Säulenrest in ungefähr 6 gleich große Teile, von denen wir jeden mit Spir. rect. warm eluierten. Der Nachweis des Chromogens fiel in sämtlichen 6 Eluaten negativ aus. Von Interesse war also für uns lediglich der Durchlauf.

4. **Probe-Chromatogramm.** Es wurden 7 cc des Filtrats aus der Floridin-Adsorption auf $Al_2O_3$ anhydr. adsorbiert.




**Zone I** wurde mit Alkohol 96 % warm eluiert. Probe der gelb gefärbten Elution mit HCl dil. erhitzt: negativ.

**Zone II** wurde mit Alkohol 96 % warm eluiert. Probe der farblosen Elution mit HCl dil. erhitzt: **positiv** (intensive Blaufärbung).

Es kann daher angenommen werden, daß vor der Adsorption auf Floridin XXF das Chromogen samt dem begleitenden Farbstoff auf $Al_2O_3$ in der gelben Zone I adsorbiert wurde.

Auf Grund dieser günstigen Ergebnisse nahmen wir nun die Adsorption auf $Al_2O_3$ der gesamten, ca. 400 cc Aceton-Alkohol-Lösung vor, die das Chromogen in vorgereinigtem Zustand enthielt. Wie zu erwarten war, entsprach das Chromatogramm demjenigen aus dem Vorversuch. Bei letzterem hatte sich auch die Möglichkeit eines flüssigen Chromatogramms gezeigt; denn beim Entwickeln mit gleichen Teilen Aceton und Alkohol und dann mit Alkohol allein begann Zone II ziemlich rasch zu wandern und trat ins Filtrat. Dies veranlaßte uns, das Hauptchromatogramm auf folgende Art zu entwickeln:

1. Aufgießen von 50 cc einer Mischung gleicher Teile Aceton und Alkohol, wobei sich Zone II bereits verbreiterte.
2. Anschließendes Weiterentwickeln mit total 1250 cc Spir. rect. 96 %.

Einige Zeit nach dem Beginn der Entwicklung wurde die gelbe Zone I unter dem U.V.-Licht herausgeschält und mit Alkohol warm eluiert. Eine Probe des Eluates, mit verd. Salzsäure erhitzt, zeigte nur noch sehr schwache Blaufärbung.

Zone II, blau leuchtend im U.-V.-Licht, farblos bei Tageslicht, erfüllte bald vollständig die Säule und trat dann ins Filtrat, das farblos und klar abtropfte. Zur quantitativen Gewinnung des Chromogens wurde schlußendlich die Säule ausgestoßen und viermal hintereinander mit je 100 cc Alkohol 96 % ausgekocht. Eine Probe der letzten Auskochung, sowie eine solche aus der Zone selber reagierte mit HCl dil. unter schwacher Blaufärbung.

Das Filtrat und die Auskochungen wurden vereinigt und in einem Destillierkolben im Vakuum auf ca. 25 cc eingeengt.

Eigenschaften dieses Konzentrats: klar, schwach gelb gefärbt; unter der Quarzlampe azurblau leuchtend. Zwei Tropfen mit einem Tropfen verd. Salzsäure erhitzt gab intensive Blaufärbung; nach dem Erkalten fiel ein schwarzblauer Körper aus.

**Aufarbeitung des Konzentrats:**

1. Versuch. Das Konzentrat wurde in einem Exsikkator über Kieselgel im Vakuum zum Verdunsten gestellt. Wir erhielten aus ihm einen geringen, hellbräunlichen, halbkristallinen Rückstand. An einigen Stellen hatten sich von bloßem Auge sichtbare Kristallnadeln gebildet.

2. Versuch. Umkristallisation aus einer Mischung Essigäther + Alkohol (11 : 9). Aufbewahrung über Kieselgel in schwa-

chem Vakuum. Hier kam es in einer bräunlichen, dickflüssigen Komponente zur Kristallbildung. Eine Trennung durch Abgießen mißlang. Nach völligem Verdunsten lagen vor:

Zahlreiche, in Rosetten angeordnete, farblose Kristallnadeln, ein weißlicher, halbkristalliner Rückstand; ein bräunlicher, amorpher Anteil.

3. Versuch. Umkristallisation. Lösen des Rückstandes in 20 cc Aceton + 4 cc Spir. rect. 96% auf dem Wasserbad. Zur Kristallisation in Eisschrank gestellt. Befund nach 12 Tagen: Lösung auf ca. 1 cc verdunstet. Unter dem Mikroskop waren 3 verschiedene, kristalline Bestandteile feststellbar:

a) Auch von bloßem Auge sichtbare, sich kreuzende oder zu Rosetten angeordnete Spieße.

b) Gewundene, fadenartige Nadeln, die beim Polarisieren stark aufleuchten.

c) Bei Tageslicht als Brocken erkennbare Gebilde; polarisiert als „Fadenkreuzkristalle" erscheinend.

d) Amorphe, gelb gefärbte Substanz.

4. Versuch. Der Rückstand aus dem 3. Versuch wurde wiederholt mit je 5 cc Chloroform versetzt, wobei sich letzteres beim Erwärmen allmählich schwach gelb färbte. Der Chloroform-unlösliche Anteil war amorph, von gelblicher Farbe.

a) Einige Tropfen der Chloroformlösung wurden verdunstet, der Verdunstungsrückstand mit wenig Alkohol aufgenommen und mit verd. Salzsäure erhitzt; keine Farbänderung. Die Chloroformlösung wurde sodann bei Zimmertemperatur zum Verdunsten gestellt. Es bildeten sich nebst einer amorphen Komponente von bloßem Auge sichtbare Nadeln, in Büscheln angeordnet. Daneben fanden sich die beim Polarisieren als Fadenkreuze erscheinenden Kristalle.

b) Eine kleine Probe des Chloroform-unlöslichen Anteils wurde ebenfalls in Alkohol gelöst und mit Salzsäure erhitzt, wobei sich die Lösung sofort intensiv blau färbte. Wir lösten nun den gesamten Anteil unter Erwärmen und Zusatz von einigen Tropfen Aqua dest. in ca. 10 cc Aceton und engten auf ca. 6 cc ein. Aus dieser Lösung ging beim Stehenlassen im Eisschrank ein amorpher, gelblicher Rückstand hervor.

5. Versuch. Dasselbe Resultat erhielten wir, als wir bei sonst gleichem Vorgehen wie beim 4. Versuch an Stelle des Aqua dest. 0,5 cc Alkohol abs. verwendeten.

6. Versuch. Dem Rückstand aus dem 5. Versuch wurden 2 cc Chloroform und soviel Alkohol abs., ca. 0,5 cc, zugefügt, bis

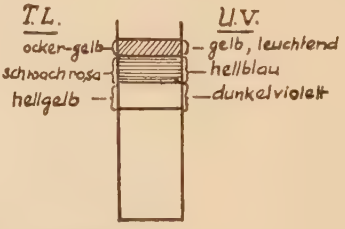
völlige Lösung eintrat. Beim Aufbewahren entstand wiederum ein amorpher Rückstand mit äußerst geringen Ansätzen zu einer Kristallisation.

Aus diesen Versuchen, insbesondere dem 3. und 4., ging eindeutig hervor, daß der vorliegende Körper nicht rein, d. h., daß Zone II aus der Adsorption auf $Al_2O_3$ (s. S. 67) nicht einheitlich war. Es konnte ferner angenommen werden, daß es sich bei den im 1. bis 4. Versuch aufgetretenen Kristallen nicht um das Chromogen handeln konnte.

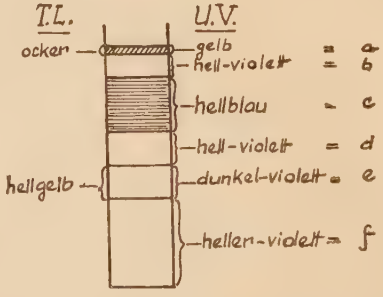
Der zur weitern Aufarbeitung verbliebene Rückstand betrug 1,2 gr. Mit 0,1 gr wurde nochmals ein Probe-Chromatogramm auf Floridin XXF ausgeführt, wobei keine Zone mehr entstand.

Wir lösten die restlichen 1,1 gr in 45 cc Aceton + 30 cc Alkohol 96 %. 4 cc dieser Adsorptionslösung mit Aceton ad 200 cc verdünnt ergab eine ca. 10 %ige Lösung. Beim Verdünnen trat eine schwache Opaleszenz auf. Es wurde abfiltriert; im Niederschlag war kein Chromogen vorhanden.

**Probeversuch auf $Al_2O_3$:**
Nach dem Aufgießen:




**Säulenbild nach dem Entwickeln**
mit 7 cc Weingeist:



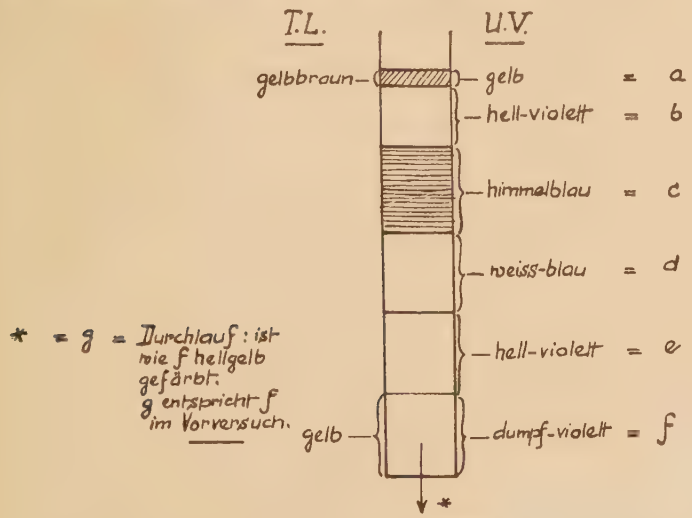

Die Zonen waren sehr scharf getrennt. Sie wurden herauspräpariert, in Alkohol gebracht und über Nacht stehen gelassen. Je 1 cc der Eluate wurde zur Trockne gebracht, die Rückstände mit je 1 cc Wasser warm aufgenommen, mit 5 Tropfen HCl dil. erwärmt, abgekühlt und schließlich mit Chloroform ausgeschüttelt:

a: relat. conc. Lösung: +
b: relat. conc. Lösung: +
c: relat. verd. Lösung: ++

d, e, f: negativ.

Die restliche Alkohol-Aceton-Lösung = 71 cc wurde mit Aceton erst auf 280 cc verdünnt, darauf dieser Lösung noch 200 cc Aceton zugefügt, wobei leichte Opaleszenz auftrat. Nach mehrtägigem Stehen wurde filtriert und auf $Al_2O_3$ adsorbiert. Zum Entwickeln des Chromatogramms wurden rund 100 cc Alkohol durchgeschickt. Der Durchlauf war hellgelb gefärbt.

Das Säulenbild ist in nachstehender Figur wiedergegeben; es entspricht im ganzen dem Probeversuch und erbringt den Beweis für die Uneinheitlichkeit des untersuchten Körpers.




Zone c schien hauptsächlich das Chromogen zu enthalten. Nach der 7. Alkohol-Elution war die Schicht immer noch chromogenhaltig.

**Aufarbeitung der Zonen:**

Zone a: Zweimalige Elution mit Alkohol 96 % durch Erwärmen. Das klare, farblose Eluat wurde eingeengt. Es war chromogenfrei und schien keine kristallisierbaren Substanzen zu enthalten.

Zone b: Dreimalige Elution mit Alkohol 96 % auf dem Wasserbad. Das Eluat zeigte nach dem Einengen goldgelbe Farbe. Beim Aufbewahren im Vakuum-Exsikkator über Kieselgel flockte ein weißlicher Körper aus. Er wurde durch Zentrifugation getrennt und die überstehende Lösung erneut eingeengt. Die Ausflockung war kristalliner Natur; unter dem Mikroskop erschien sie in Form teils

sehr feiner Nadeln. Eine Probe, in Alkohol gelöst, zeigte beim Erhitzen mit Salzsäure äußerst schwache Blaufärbung. Es konnte sich hier nicht um das Chromogen handeln.

Zone c: Der braune Rückstand, hervorgegangen aus den sieben Alkohol-Elutionen, zeigte unter dem Mikroskop das bisher einheitlichste Bild, nämlich gleichmäßig verteilte, feine Nadeln, die stark polarisierten; außerdem eine amorphe Komponente.

Der Rückstand wurde in 3 ungefähr gleich große Teile geteilt und jeder zu Kristallisationsversuchen verwendet:

1. Probe + 4 cc Aceton + 0,2 cc $H_2O$. Aufbewahrung: Eisschrank. Ergebnis: halbkristalline Körper + brauner, amorpher Anteil.

2. Probe + 3 cc Chloroform + 1 cc Alkohol. Eisschrank. Ergebnis: Es entstanden, allerdings erst beim Eintrocknen, eingeschlossen in einen braunen, amorphen Körper, feine, gleichmäßig verteilte Nadeln. Wir brachten diesen Rückstand in einen Rundkolben, versetzten ihn mit 10 cc Aceton und erhitzten das Ganze am Rückflußkühler während 1½ Stunden. Es wurde heiß filtriert und das Filtrat während 48 Stunden in den Eisschrank gestellt. Es trat lediglich eine schwache Färbung auf. Wir engten im Vakuum auf ca. 4 cc ein. Beim Stehenlassen im Eisschrank ging aus diesem Versuch ein amorpher Körper mit halbkristallinen Einschlüssen hervor.

Ein geringer, in Aceton ungelöst gebliebener Rest, wurde in Alkohol aufgenommen und mit der 2. Probe vermischt.

Zone d: Dreimalige warme Elution mit Alkohol 96%. Eine Probe aus dem eingeengten, gelben Eluat gab mit verd. Salzsäure erhitzt eine kaum wahrnehmbare Blaufärbung. Damit schien der Gehalt an Chromogen in dieser Zone fraglich; es wurde auf eine nähere Untersuchung verzichtet.

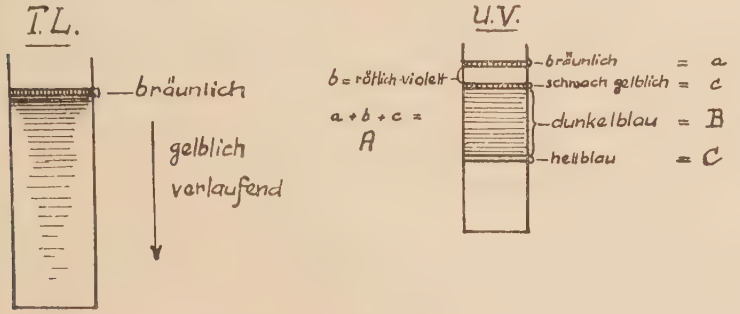
Zone e: Aus den Eluaten dieser Zone wurde nichts von Bedeutung gewonnen.

Zone f: Von Interesse mag hier sein, daß aus den drei vereinigten Eluaten nach dem Einengen ein halbkristalliner Stoff von bitterm Geschmack ausflockte. Der geringen Ausbeute wegen wurde auf seine Untersuchung verzichtet.

**Die Aufarbeitungsrückstände aus Zone c** wurden in Alkohol 96% gelöst, vereinigt und im Vakuum auf ca. 5 cc eingeengt. Wir brachten die Lösung in einen Meßzylinder, spülten mit Alkohol nach und verdünnten auf 10 cc. Ungefähr ⅔ dieser Lösung fanden in wiederholten Adsorptionen, d. h. möglichst zur Reindarstellung des Chromogens, Verwendung (A). Der Rest, ⅓, wurde zur Durchführung einer katalytischen Mikrohydrierung vorbereitet (B, s. S. 75).

**A. 3. Adsorption auf $Al_2O_3$.**

Aus obiger Lösung erhielten wir im Vakuum 0,25 gr Trockenrückstand. Wir lösten mit 25 cc Aceton + 2 cc Alkohol 96 %; die ca. 1%ige Lösung war klar, von hellgelber Farbe. Das Chromatogramm zeigte nach dem Entwickeln mit 5,5 cc einer Mischung gleicher Teile Aceton und Alkohol folgende Bilder:



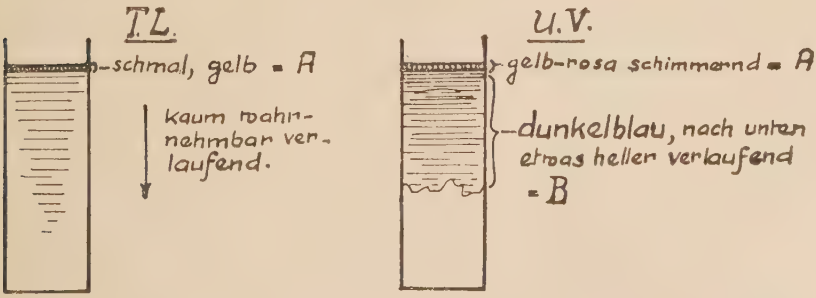

Die Zonen A, B und C wurden getrennt und mit Alkohol 96 % auf dem Wasserbad möglichst quantitativ eluiert.

Probe aus Eluat A + HCl dil.: sehr schwach positiv.
Probe aus Eluat B + HCl dil.: **stark positiv.**
Probe aus Eluat C + HCl dil.: negativ, ebenso der Durchlauf.

Es wurde lediglich Zone B berücksichtigt. Die resp. Eluate wurden vereinigt (total 175 cc) und eingeengt. Wir führten keine Kristallisationsversuche durch. Der amorphe, bräunliche, durchsichtige Trockenrückstand wurde wie vorher in der Aceton-Alkohol-Mischung gelöst und so zur 4. Adsorption vorbereitet.

**4. Adsorption auf $Al_2O_3$:**

Säulenbild nach dem Entwickeln mit 2 cc Aceton-Alkohol aa:

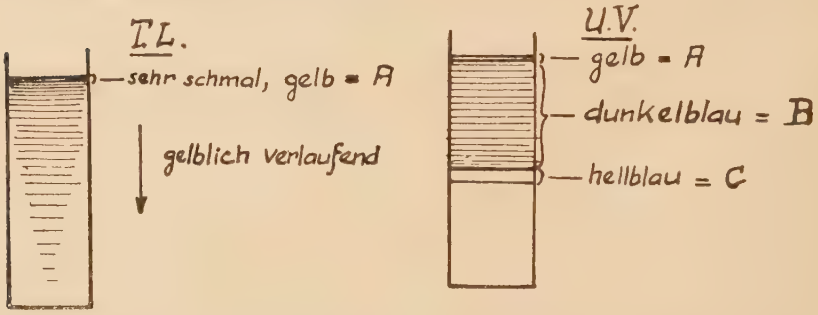



Das Chromogen wurde in Zone B adsorbiert. Das Eluat aus Zone A, sowie der Durchlauf gaben bei der Spaltung mit verd. Salzsäure keine Farbreaktion.

Zone B wurde fünfmal mit je 40 cc Alkohol 96 % warm eluiert. Die Eluate lieferten wiederum einen hellbraunen, im U.V.-Licht intensiv blau leuchtenden Trockenrückstand. Er wurde mit 12 cc der 10 %igen Aceton-Alkohol-Mischung aufgenommen. Die klare, hellgelbe Lösung fand zur fünften und letzten Adsorption Verwendung.

**5. Adsorption auf $Al_2O_3$:**

Säulenbild nach dem Entwickeln mit 2 cc Aceton-Alkohol aa:




Zone A war hier noch schmaler als bei der 4. Adsorption. Neu bildete sich eine schmale, kaum wahrnehmbare Zone C. Das Chromogen konnte ausschließlich in Zone B nachgewiesen werden. Wir eluierten sie so lange, d. h. fünfmal mit je 30 cc Alkohol auf dem Wasserbad, bis eine Probe der Zone beim Hydrolysieren mit verd. Salzsäure nurmehr mit hellblauer Farbe reagierte. Was diesen Nachweis betrifft, hatte sich folgende Technik bewährt: Es wurden von Zeit zu Zeit der betreffenden Zone geringe Mengen entnommen, in ein Versuchsgläschen gebracht und in ca. 0,5 cc Alkohol aufgeschwemmt. Diese Aufschwemmung wurde vorerwärmt und darauf mit einigen Tropfen verd. Salzsäure versetzt und erhitzt. In Fällen, da nur äußerst kleine Mengen adsorbierten Chromogens vorhanden sein konnten (unter der Quarzlampe erschienen solche Schichten blaß-bläulich), stellte sich bei dieser Technik unverzüglich deutliche Blaufärbung ein. Es sei erwähnt, daß es in keinem Fall gelang, das Chromogen vollständig aus dem Verband mit $Al_2O_3$ zu lösen. Dieser Faktor verursachte die im Verlauf der chromatographischen Analyse aufgetretenen, erheblichen Verluste an Substanz.

Nach der 5. Adsorption standen uns noch 0,06 gr Chromogen zur Verfügung. Sie dienten uns zur Bestimmung der Löslichkeiten und zu Kristallisationsversuchen.

**Die Löslichkeiten des Roh-Chromogens:**

In Alkohol und Wasser leicht löslich.

In ziemlich viel Essigäther löslich, in Aether schwerer löslich. In Aceton und Benzol beim Erwärmen unter Opaleszenz wenig löslich. Unlöslich in Chloroform, Benzin, Petroläther, Amylalkohol.

Beim Versuch zu kristallisieren ging einzig aus einer Lösung des Chromogens in 3 cc Chloroform + 0,5 cc Alkohol ein halbkristalliner Körper hervor. Das mikroskopische Bild konnte nicht als einheitlich bezeichnet werden. Es zeigte feine Nadeln und „Fadenkreuze", daneben halbkristalline, quaderartige Formen, eingebettet in einen amorphen, bräunlich-gelben, durchsichtigen und harzartigen Stoff.

---

### B. Die katalytische Mikrohydrierung des Chromogens.

Im Verlauf der Untersuchung erwies sich ein blauer Farbstoff, der bei der Hydrolyse mit Salzsäure auftrat, als Indikator für die Gegenwart des Glycosids. Die gefärbte Komponente hätte ein sekundäres Zersetzungsprodukt der Hydrolyse darstellen können, wie das auch der Fall beim Aucubin ist. Daher wurde wie beim Aucubin, um die sekundäre Zersetzung zu vermeiden, eine Hydrierspaltung vorgenommen mit neutralisierter Platinchloridlösung als Katalysator.

Zur Durchführung unseres Versuchs dienten uns die Angaben von T. Kariyone und K. Kondo[51]). Die beiden Autoren hatten mit Aucubin eine Hydrierspaltung durchgeführt. Sie lösten 1,0 gr Aucubin in 15 cc Wasser und fügten 5 cc einer 4%igen mit Natronlauge 1% neutralisierten Platinchloridlösung zu. Das Aucubin adsorbierte 260 cc Wasserstoff und spaltete sich dabei in einen öligen Körper und Glucose.

Es standen uns 0,145 gr Roh-Chromogen zur Verfügung, wovon ⅓ = 0,048 gr zur Mikrohydrierung Verwendung fanden. Gemäß den Angaben der Japaner errechnete sich das zugehörige Wasser auf 0,72 cc; zur völligen Lösung benötigten wir die doppelte Menge = 1,44 cc. Sie wurde mit 0,3 cc (genau berechnet hätte es deren 0,24 cc bedurft) neutralisierter 4%iger Platinchloridlösung als Katalysator versetzt und das Ganze während ungefähr ¼ Stunde in der Wasserstoffatmosphäre geschüttelt. (Apparatur nach Gattermann[52])). Der Versuch verlief negativ; denn unter analogen Verhältnissen wie beim Aucubin wurde weder hydrolysiert noch hydriert. 1 Tropfen der Lösung mit 1 cc Wasser verdünnt und mit Salzsäure erhitzt, gab nach dem Hydrierversuch die bekannte schöne Blaufärbung. Man nahm dann die Hydrolyse in der üblichen Weise mit verdünnter Schwefelsäure vor. Ca. 0,09 gr Chromogen (1 mal adsorbiert) wurden in 5,5 gr 10%iger Schwefelsäure gelöst und dann 1¾ Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Eine blaue Färbung oder Fällung konnte in der jetzt vorliegenden viel stärkeren

Konzentration nicht beobachtet werden, dagegen trat schon nach sehr kurzem Erhitzen eine braune Fällung auf. Es sieht danach aus, als ob die Art der Färbung eine Funktion der Konzentration ist; denn ebenfalls eine braune Fällung trat auf bei der Verwendung von Salzsäure, mit der wir beim Erhitzen immer die schöne blaue Färbung hatten beobachten können. Beim Lösen des Erlenmeyerkölbchens vom Rückflußkühler konnte nach der Hydrolyse ein aromatischer Geruch festgestellt werden. Auch hier handelt es sich offenbar um ein Spaltprodukt des Glycosids. Das wasserunlösliche Aglucon wurde abfiltriert, gewaschen und getrocknet. Es war amorph und zeigte außerordentlich geringe Löslichkeit, eine Eigenschaft, die übrigens schon in Vorversuchen festgestellt worden war. In Wasser, Aether, Chloroform, Benzol, Essigäther, Aceton, Amylalkohol war das Aglucon kalt und warm schwer bis unlöslich. Nur Alkohol löste einen Teil der Fällung auf. Beim Verdunsten der filtrierten Lösung erschienen keine Kristalle.

**Zuckerfraktion der Hydrolyse.** Die nach dem Abfiltrieren verbliebene Lösung wurde mit Bariumkarbonat neutralisiert, anschliessend mit wenig Tierkohle entfärbt und dann im Vakuum eingedampft. Der Verdampfungsrückstand reduzierte Fehling'sche Lösung. Quantitative Verhältnisse der Hydrolyse wurden unberücksichtigt gelassen, da nur wenig eines unreinen Ausgangsmaterials verarbeitet wurde und allem Anschein nach neben der braunen Fällung und der Zuckerfraktion auch noch eine flüchtige Komponente entstand, die von uns gar nicht berücksichtigt wurde.

Der gesamte Rückstand der Vakuumdestillation fand Verwendung zur Herstellung von Osazon.

0,02 gr Rückstand wurden mit
0,04 gr Phenylhydrazin-Hydrochlorid,
0,04 gr Natriumazetat und
0,4 gr Wasser versetzt und im Wasserbad erhitzt. Schon nach kurzer Zeit erstarrte die Flüssigkeit zu einer goldgelben kristallinischen Masse. Da in Glycosiden neben Glucose häufig Rhamnose gefunden wird, dessen Osazon im Gegensatz zu ersterem in Aceton löslich ist, wuschen wir das gesamte Osazon gründlich mit Aceton durch. Das Aceton färbte sich intensiv gelb-braun, während die zurückbleibenden Kristalle nun kanariengelb erschienen.

**Acetonlösliches Osazon.** Nach dem Verdunsten des Lösungsmittels hinterblieben sehr schöne Kristallbüschel. Die Ausbeute war aber sehr klein. Das Umkristallisieren aus Benzol und auch aus Alkohol gelang nicht oder schlecht. Infolgedessen bleibt die Frage offen, ob es sich um Rhamnose handelte oder nicht, denn die Osazonmenge reichte nicht aus zur Bestimmung eines Schmelzpunktes. Ferner hätte mit dem Siruprückstand noch besonders, z. B. mit Hilfe von Farbreaktionen, auf Methylpentosen geprüft werden sollen.

**Acetonunlösliches Osazon.** Das auf dem Filter nach dem Auswaschen mit Aceton zurückgebliebene Osazon wurde zuerst aus Pyridin-Alkohol und dann, nach Entfernen des Pyridins, warm aus verdünntem Alkohol kristallisiert. Die Ausbeute an Osazon ist grösser als im acetonlöslichen Anteil, so daß mehrere Schmelzpunkte haben bestimmt werden können. Man bereitete sich ein Kontrollpräparat aus Glucose. Die Erhitzungsgeschwindigkeit des Apparates betrug pro Grad Celsius 2—3 Sekunden.

1. Schmelzpunkt des Kontrollosazons: 204° korr.
2. Schmelzpunkt unseres Osazons: 196,5° korr.
3. Mischschmelzpunkt der beiden obigen Osazone: 197° korr.

Bei unserem Zucker könnte es sich ohne Berücksichtigung der geringen Schmelzpunkterniedrigung um Glucose, Fructose oder eventuell um Mannose handeln. Zur Entscheidung dieser Frage wäre eine noch bessere Reinigung des Osazons vorzunehmen gewesen. Dies war nicht möglich, da alles Osazon für die obigen Schmelzpunktbestimmungen verbraucht wurde. Ferner hätten noch Reaktionen durchgeführt werden müssen, um festzustellen, ob es sich um Glukose oder Fruktose, also Reaktionen auf Aldosen, respektive Ketosen, handelt. Leider mußte darauf infolge Materialmangels verzichtet werden.

Die bei der Mikrohydrierung gewonnenen Ergebnisse lassen sich wie folgt zusammenfassen:

Das Roh-Chromogen, das einen durch mehrfache Adsorption auf $Al_2O_3$ und Floridin XXF weitgehend vorgereinigten Körper darstellte, ließ sich bei der katalytischen Mikrohydrierung weder hydrieren, noch hydrolysieren, so daß Identität mit Aucubin kaum in Frage kommt. Es gelang nicht, dieses Roh-Chromogen in eine kristalline Form überzuführen. Bei seiner Spaltung mit verdünnter Schwefelsäure wurden ein dunkel gefärbtes Aglukon und eine Zukkerfraktion erhalten; als weiteres Spaltprodukt kann eine flüchtige, aromatisch riechende Komponente bezeichnet werden, die bei der Untersuchung unberücksichtigt blieb, da ihre Herkunft aus dem Glykosid nicht erwiesen war. Eine Probe des Roh-Chromogens gab keine positive Fehling-Reaktion; die Zuckerfraktion entstammte somit offenbar dem Glykosid. Beim Zucker handelte es sich um Glukose, Fructose oder eventuell Mannose. Materialmangel verhinderte indessen eine Abklärung der sich im einzelnen ergebenden Fragen, im besondern auch jene, ob Rhamnose zugegen war oder nicht.

---

Wir befaßten uns sodann mit den bei der Bleimethode mittels Bleiacetat (S. 58) und Bleiessig (S. 58) gewonnenen Niederschlägen, indem wir versuchten, aus diesen Fraktionen eventuell vorhandene, kristalline Bestandteile zu gewinnen.

### A. Der Bleiacetat-Niederschlag a.

Dieser Niederschlag wurde, wie S. 59 beschrieben, in Alkohol suspendiert und mit Schwefelwasserstoff entbleit. Der Rückstand aus dem Filtrat (mit 1 bezeichnet) stellte ein hellbraunes Pulver dar. Es enthielt kein Chromogen, war aber offenbar reich an Gerbstoff.

Wir stellten nun mit dem Pulver eine 10 %ige wässerige Lösung her und perforierten sie mit Aether.

1. **Das Aetherperforat** wurde mit Natr. sulfuric. sicc. entwässert und dann filtriert. In einer Probe des Filtrates bildeten sich beim Verdunsten des Aethers kleine, gelbe Nadeln. Wir lösten sie in Alkohol 96 % und entfärbten die gelbe Lösung mit Carbo adsorbens. Aus dem Filtrat kristallisierten beinahe farblose Nadeln und Prismen. Beim Erhitzen derselben stellte sich heraus, daß die Substanz um 160° herum sublimiert, eine Eigenschaft, die wir uns zur Reindarstellung des Körpers nutzbar machen konnten.

Wir engten das ganze Aetherperforat im Vakuum ein, wobei bereits eine gelblich-braune, kristalline Ausflockung entstand. Nach völligem Abdestillieren des Aethers erhielten wir einen braunen Rückstand mit zahlreichen, teils in Rosetten angeordneten Kristallnadeln. Wir lösten den Rückstand in Alkohol 96 % und entfärbten die gelbbraune Lösung mit Kohle. Aehnlich dem Vorversuch ließen sich aus dem Filtrat schwach gelb gefärbte Kristalle gewinnen, die nun einer Vakuum-Sublimation unterworfen wurden. Der Schmelzpunkt des ersten Sublimates lag bei 228—232° korr. (Mikro-Smp. Bestgs. Apparat n. K o f l e r). Zur weitern Reinigung nahmen wir mehrmals Umkristallisationen aus heißem Wasser vor. Dann wurden die beinahe weißen Kristalle wieder sublimiert, wobei ein unwägbarer bräunlicher Anteil zurückblieb. Nach mehrfacher Vakuumsublimation wurde die Substanz rein weiß und mit konstantem Schmelzpunkt erhalten. Er lag bei 240 bis 241° korr. Die Sublimation erfolgte zwischen 164° und 166° korr. Die Ausbeute betrug ca. 0,2 gr. Diese Substanz zeigt sauren Geschmack, rötet Lackmuspapier und ist in Soda löslich. Sie löst sich ferner in NaOH dil., Alkohol, Aether, Aceton und Wasser (warm!); sie ist unlöslich in HCl dil., Benzol, Chloroform, Petroläther. Es dürfte sich aller Voraussicht nach um eine organische Säure handeln.

Die Stickstoff (Lassaigne)- und Schwefelnachweise verliefen negativ.

Eine wässerige und eine alkoholische Lösung, sowie eine Lösung der Substanz in Aceton wurden tropfenweise mit einer stark verdünnten Kaliumpermanganatlösung versetzt [46]); es trat sofortige Entfärbung der Kaliumpermanganatlösung ein. Die Substanz hat also ungesättigten Charakter.

**Elementaranalyse:**

| | |
|---|---|
| 1. 3,172 mg Substanz gaben . . . | 1,219 mg $H_2O$ |
| | 4,899 mg $CO_2$ |
| Berechnet für $C_6H_6O_6$ . . . . | 41,372 % C; 3,47 % H |
| Gefunden . . . . . | 42,12 % C; 4,30 % H |
| 2. 3,120 mg Substanz gaben . . . | 1,201 mg $H_2O$ |
| | 4,798 mg $CO_2$ |
| Berechnet für $C_6H_6O_6$ . . . . | 41,37 % C; 3,47 % H |
| Gefunden . . . . . | 41,94 % C; 4,31 % H |

**Molekulargewichtsbestimmung:**

Das Molekulargewicht konnte infolge Unlöslichkeit in Kampfer nicht nach Rast[49]) bestimmt werden. Man wählte die Bestimmungsmethode nach Barger-Signer[53]), die auf dem Prinzip beruht, daß aequimolare Lösungen in demselben Lösungsmittel bei derselben Temperatur denselben Dampfdruck zeigen (Isotherme Destillation). Die nach Signer[54]) abgeänderte Methodik hat die Vorteile, daß große Oberflächen der Destillation ausgesetzt sind, daß die Diffusionsgeschwindigkeit durch das Evakuieren stark erhöht wird und ferner, daß kleine Volumenveränderungen feststellbar sind. Als Lösungsmittel diente uns absoluter Aether (alkohol- und wasserfrei: nach dem Waschen mit Wasser wurde er mit Kalziumchlorid und metallischem Natrium getrocknet und anschließend über metallischem Natrium destilliert). Als Testsubstanz mit bekanntem Molekulargewicht wurde Azobenzol, $(C_6H_5)_2N_2$, gewählt. Die Destillation fand in einem Thermostaten von Raumtemperatur statt.

Einwage: 2,31 mgr (Mikrowage) = Azobenzol
7,17 mgr (Mikrowage) = Säure.

Die beiden Substanzen wurden in Tablettenform in die respektiven Schenkel des Apparates gebracht und zu jeder Tablette 5 cc abs. Aether als Lösungsmittel zugegeben. Die Apparatur wurde dann unter Verwendung von Azeton und fester Kohlensäure als Kühlmittel evakuiert und zugeschmolzen.

**Berechnung:**

$$\text{Molekulargewicht der Substanz X} = M_2 \frac{(G_1 \cdot V_2)}{(G_2 \cdot V_1)}$$

| | | |
|---|---|---|
| wobei: $M_2$ = Molekulargewicht des Azobenzols . . | 182,2 | |
| $G_1$ = Gewicht der Säuretablette . . . . | 7,17 | mgr |
| $G_2$ = Gewicht der Azobenzoltablette . . . | 2,31 | mgr |
| $V_1$ = Volumen der Säurelösung . . . . . | 7,19 | cc |
| $V_2$ = Volumen der Azobenzollösung . . . | 2,14 | cc |
| Berechnet für $C_6H_6O_6$ Molekulargewicht . | 174 | |
| Gefunden . . . . . | 168 | |

**Darstellung des Silbersalzes** (Houben-Weyl[40]):

Der Analyse des Silbersalzes kann nur orientierender Wert zukommen, weil nicht genügend Substanz (es wären 2—3 gr erforderlich) zur Reaktion gebracht werden konnte und weil das Silbersalz auch bei vorsichtigem Veraschen — zuerst mit der Mikroflamme — die unangenehme Eigenschaft besitzt, sich unter Verpuffen zu zersetzen, wobei kleine Verluste unvermeidbar sind. Ca. 0,02 gr Säure wurden mit 4 Tropfen Wasser und 6 Tropfen conc. Ammoniak versetzt, wobei sehr rasch Lösung erfolgte; dann wurde gekocht, bis kein Geruch nach Ammoniak mehr wahrnehmbar war und neutrale Reaktion festgestellt wurde. Nach dem Erkalten versetzte man mit 50%iger Silbernitratlösung, bis keine neue Fällung entstand. Es wurde im Vakuum abgenutscht, mit Wasser gewaschen, abgeklatscht und in braunem Vakuumexsikkator getrocknet bis zur Gewichtskonstanz, Es wurden 0,06 gr Silbersalz verascht. Zuerst geschah dies mit der Mikroflamme, dann 2 Stunden ca. mit dem Teklubrenner. Es wurde auch mehrmals mit Salpetersäure abgeraucht, bis Gewichtskonstanz erreicht worden war.

**Silbergehalt des Silbersalzes:**

Aus 0,06 gr Silbersalz wurden 0,0325 gr Ag erhalten.

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Ag-Salz: | Ag | = | 100 | : | X |
| 0,06 | : 0,0325 | = | 100 | : | X |
| | X | = | 54 | | |

Berechnet für $C_6H_4O_6Ag_2$ . . . . 55% Ag
Gefunden . . . . . 54% Ag.

**Analyse des Silbersalzes, Titration der Säure mit NaOH.**

Methodik der Mikrokarboxylbestimmung nach Pregl[49]). Die n/100 Maßflüssigkeiten wurden nach den Angaben von Pregl hergestellt, wobei besonders auf die Karbonatfreiheit der Lauge hingewiesen sei (Sörensen — Oellauge). Zur Bestimmung kommen Mengen, die zwischen 4 bis 8 mgr variieren. Es wurde ausschließlich mit sorgfältig ausgedämpften Erlenmeyerkolben gearbeitet. Zur Titration fanden Mikrobüretten Verwendung, die in Hundertstelkubikzentimeter eingeteilt sind.

„Da bei der Titration schwach dissozierter organischer Säuren, deren Salze in wässriger Lösung die Erscheinung der Hydrolyse zeigen, was zu unrichtigen Resultaten führt, muß die Titration in 50%igem Alkohol als Lösungsmittel, wo die Hydrolyse vollkommen zurückgedrängt wird, ausgeführt werden. Da aber Alkohol fast immer schwach saure Reaktion zeigt, hat man sich zuvor für eine Reihe von Bestimmungen einen neutral reagierenden 50%igen Alkohol frisch zu bereiten. 10 cc reinen absoluten Alkohols und 10 cc Wasser werden mit 2 Tropfen 1%igem alkoholischen Phenolphtalein versetzt, zum

Kochen erhitzt und mit n/100-Lauge bis zur ersten Spur einer Rosafärbung titriert, hierauf mit 0,1 cc n/100-Salzsäure entfärbt und eine halbe Minute im Kochen erhalten, dann kochend heiß bis zum Auftreten schwacher Rosafärbung mit n/100-Natronlauge neutralisiert. Von diesem neutralen Alkohol bringt man 2—4 cc auf die abgewogene Substanz, erwärmt sie, wenn nötig, um die Lösung zu unterstützen, titriert mit n/100-Natronlauge bis zur ersten Spur einer Rosafärbung, gibt gleich darauf 0,1 cc n/100-Salzsäure zu und kocht durch eine halbe Minute, um die Kohlensäure sicher auszutreiben. Hierauf titriert man in einem Zuge mit n/100-Natronlauge bis zum Eintritt der ersten Spur schwacher Rosafärbung, die wenigstens mehrere Sekunden bestehen bleiben soll. Man wird sich überzeugen können, daß 0,01 cc n/100-Natronlauge einen deutlichen Umschlag zwischen Farblosigkeit und einem mehrere Sekunden bestehen bleibenden Rosa gibt". (Pregl[49]).

**Resultate der Titration:**

| | | |
|---|---|---|
| 1. Substanzmenge | 5,14 | mgr |
| Verbrauchte n/100 NaOH | 7,402 | cc |
| Berechnet für $C_6H_4O_6Na_2$ | 6,43 | mgr |
| 2. Substanzmenge | 5,530 | mgr |
| Verbrauchte n/100 NaOH | 8,015 | cc |
| Berechnet für $C_6H_4O_6Na_2$ | 6,96 | mgr |

**Bestimmung des Karboxylgehalts:**

$$\% \text{ Karboxyl} = \frac{n \cdot 45}{s}$$

wobei: n = Anzahl cc verbrauchter n/100 NaOH
s = Anzahl Milligramm verwendete Substanz
45 = Molekulargewicht der (COOH)-Gruppe.

| | | |
|---|---|---|
| 1. Berechnet für $C_4H_4O_2(COOH)_2$ | 51,8 | % Karboxyl |
| Gefunden | 64,78 | % Karboxyl |
| 2. Berechnet für $C_4H_4O_2(COOH)_2$ | 51,8 | % Karboxyl |
| Gefunden | 65,22 | % Karboxyl |
| Gefundener Mittelwert | 65,0 | % Karboxyl |

**Bestimmung der Basizität:**

Berechnung bei Verwendung von n/100-Lauge:

$$X = \frac{a \cdot M}{100 \cdot S}$$

wobei: a = Anzahl verbrauchter cc n/100 NaOH
M = Molekulargewicht
S = Gewicht der Substanz in Milligrammen
X = Basizität.

1. Bestimmung: X = Basizität = 2,4[2]
2. Bestimmung: X = Basizität = 2,4[3]

**Bestimmung des Molekulargewichts aus dem Prozentgehalt an Silber und der Basizität der Säure.**

$$\text{Molekulargewicht} = M = \frac{100 \cdot n \cdot 108}{p} + n\text{-}n \cdot 108$$

wobei: p = Prozentgehalt an Silber = 54
n = Basizität der Säure = 2

| | |
|---|---|
| Berechnet für $C_6H_6O_6$ Mol. Gew. | 174 |
| Gefunden aus obigen Werten | 186 |
| Gefunden nach Barger-Signer (S. 79) | 168 |

Verbrennung und Molekulargewichtsbestimmung der aus dem Methylalkoholextrakt isolierten, ungesättigten Säure führten zur empirischen Formel $C_6H_6O_6$. Durch Titration der Säure mit n/100 NaOH ließ sich das Vorhandensein von zwei Karboxylgruppen ermitteln. Die dabei gefundenen prozentualen Werte liegen höher als die für $C_4H_4O_2(COOH)_2$ errechneten (S. 81); möglicherweise fand eine partielle Einwirkung der Natronlauge auf andere vorhandene Hydroxylgruppen statt. Weitere Versuche zur Aufklärung der Konstitution konnten infolge Mangel an Material nicht mehr ausgeführt werden.

Die Eigenschaften, die diese organische Säure kennzeichnen, stimmen mit keinen jener Körper überein, die bisher in der Literatur unter der Summenformel $C_6H_6O_6$ figurieren und daselbst beschrieben sind.

---

2. **Der nach der Aether-Perforation verbleibende Anteil aus dem Bleiacetatniederschlag** (vergl. S. 78) zeigte folgende Löslichkeitsverhältnisse:

In Wasser und Alkohol mit brauner Farbe löslich, teilweise löslich in Aceton, unlöslich in Aether, Chloroform, Benzol, Petroläther und Essigäther.

**Versuch einer Acetylierung.**

0,2 gr Substanz wurden mit 1,0 gr geschmolzenem Natriumacetat und 15 cc Essigsäureanhydrid während 1 Stunde am Steigrohr erhitzt, das Reaktionsprodukt sodann in 50 cc Wasser gegossen. Nach 24-stündigem Stehenlassen wurde filtriert und mit Wasser nachgewaschen, bis die Waschflüssigkeit neutral reagierte. Das getrocknete Reaktionsprodukt stellte ein hellbraunes, amorphes Pulver von 0,26 gr dar. Es war in Wasser, Aether und Petroläther unlöslich; beim Erwärmen löste es sich in abs. Alkohol; es war leicht löslich in Chloroform, Essigäther, Benzol und Aceton. Mit $HNO_3$ conc.: keine Rotfärbung.

Zur Prüfung auf Einheitlichkeit wurde noch aus einer Mischung gleicher Teile Aceton und abs. Alkohol auf $Al_2O_3$ adsorbiert. Das Chromatogramm wies 2 unscharf getrennte Zonen auf, eine grünlich-gelbe und eine zitronengelbe. Das wässerige Eluat aus der ersten gab mit Eisenchlorid eine intensive Grünfärbung, während das Eluat aus der zweiten Zone, sowie der farblose, klare Durchlauf auf Zugabe von $FeCl_3$ nicht reagierten.

Auf eine nähere Untersuchung dieser Anteile wurde nicht eingetreten.

---

### B. **Der Bleiessig-Niederschlag b.** (S. 59)

Die Aufarbeitung dieser Fällung geschah nach demselben Prinzip wie beim Bleiacetatniederschlag. Der zu untersuchende Körper (mit *2* bezeichnet, s. S. 60) war ein dunkelbraunes, wasserlösliches Pulver. Eisenchlorid erzeugte auch in dieser wässerigen Lösung einen intensiven grünen Niederschlag, was wiederum auf hohen Gehalt an Gerbstoff hinwies. Der Nachweis von Chromogen verlief negativ.

Wir verwendeten die zur Verfügung stehende Menge zur Herstellung einer 10 %igen wässerigen Lösung, die wir mit Aether perforierten.

1. **Das Aetherperforat** war goldgelb gefärbt. Eine Probe desselben, auf ein Uhrglas gebracht und verdunstet, zeigte neben amorphen Komponenten feine, gelbe Nadeln, einzeln und in Rosetten angeordnet. Wir destillierten den Aether des gesamten Perforates ab, nahmen den Rückstand mit genügend heißem Wasser auf und filtrierten durch ein Heißwasserfilter. Beim Erkalten flockte ein hellgelber Körper aus, den wir durch Filtration abtrennten und trockneten. Aus naheliegenden Gründen versuchten wir — zuerst in der Molischkammer — zu sublimieren. Aehnlich der Säure aus dem Bleiacetatniederschlag erwies sich auch hier ein Teil des Körpers als sublimierbar. Er wurde durch mehrfache Vakuumsublimation gereinigt. Das Sublimat wurde aber trotzdem nicht so rein erhalten wie im obigen Fall. Es zeigte schließlich einen Schmelzpunkt von 240° korr. Die Löslichkeitsverhältnisse sind identisch mit denjenigen obiger Säure. Der Mischschmelzpunkt von beiden Präparaten zeigte keine wesentliche Depression (232° korr.). Daraus ist wohl zu schließen, daß es sich wahrscheinlich in beiden Fraktionen, d. h. im Aetherperforat des Bleiacetat-, wie des Bleiessigniederschlags um dieselbe Substanz handelt. Da in dieser Fraktion sehr wenig Material gewonnen wurde, war es nicht möglich, durch weitere Prüfungen diese Vermutung zu bestätigen.

Wie oben erwähnt, war nicht der ganze Aetherrückstand sublimierbar. Der nichtsublimierbare, gelbgefärbte Anteil war mengenmäßig noch geringer als der sublimierbare, zeigte ferner keine Ansätze zu Kristallisation und erwies sich chromatographisch geprüft so vielzonig, respektiv so uneinheitlich, daß auf eine weitere Untersuchung verzichtet wurde.

2. **Der nach der Aether-Perforation verbleibende Anteil aus der Bleiessig-Fällung** zeigte dieselben Löslichkeitsverhältnisse wie die entsprechende Fraktion aus dem Bleiacetatniederschlag. Er löste sich in Wasser und Alkohol mit brauner Farbe, war in Aceton teilweise löslich, in Chloroform, Benzol, Petroläther und Essigäther unlöslich.

**Der Versuch einer Acetylierung** wurde unter denselben Bedingungen und quantitativ wie im obigen Fall ausgeführt. Das Reaktionsprodukt stellte ein braunes, amorphes Pulver dar; es zeigte dieselben Löslichkeiten wie der entsprechende Körper aus der frühern Aufarbeitung (s. S. 82).

---

### 3. Kaltwasserextrakt.

Die mit Essigäther und Methylalkohol vorbehandelte Pflanzenmasse wurde zum Abschluß einer Kaltwasserextraktion unterzogen. Die sorgfältig getrocknete Drogenmenge betrug noch 3 kg 300 gr (Vergl. S. 53). Sie wurde zu gleichen Teilen in 2 große Perkolatoren eingefüllt und nach dem gleichnamigen Verfahren erschöpft. Um Gärungserscheinungen möglichst zu vermeiden, hatten wir dem Wasser 5 % Alkohol zugesetzt. Aus der dunkelbraunrot gefärbten Extraktionslösung konnten durch Eindampfen im Vakuum (Sikotopf) 10,0 gr Trockenrückstand gewonnen werden, was nur 0,3 % entspricht. Das dunkelbraun gefärbte Extrakt bestand aus brüchigen Brocken, die sich leicht zu einem Pulver zerreiben ließen. Dieses war von laugigem, schwach bitterem Geschmack.

Um zunächst Aufschluß darüber zu erhalten, ob der Auszug noch chromogenhaltig sei, wurde eine Probe desselben in Wasser gelöst und mit verdünnter Salzsäure erhitzt. Es traten weder Farbänderungen noch Niederschlag auf, womit die Abwesenheit von Chromogen als sicher angenommen werden konnte.

Mit der wässerigen Extraktlösung ließen sich noch folgende Feststellungen machen:

Sie reduzierte Fehling'sche Lösung.
Mit Eisenchlorid versetzt, färbte sie sich smaragdgrün.

Beim Erhitzen einiger cc entstand eine flockige Ausscheidung, die beim Ansäuern mit Salpetersäure bestehen blieb. Vermutlich handelte es sich um Eiweißkörper. (Die Ausflockung wurde nicht näher untersucht.)

Mit dem gleichen Volumen Alkohol 96% versetzt, bildete sich in der wässerigen Lösung ein Niederschlag. Offenbar bestand auch dieser aus Eiweißstoffen (eventuell Pflanzenschleim und Salzen).

Bleiacetat- und Bleiessiglösungen erzeugten einen hellgrünen, resp. gelben Niederschlag.

Diese Feststellungen sind nicht alle neu; sie bestätigen zum Teil Beobachtungen, die bereits von früheren Autoren gemacht wurden (z. B. Enz[1]), Melton und Sayre[4])).

---

## 4. Zusammenstellung der Resultate.

1. In Vorversuchen wurden Auszüge aus kleinen Drogenmengen hergestellt und auf $Al_2O_3$ chromatographisch analysiert. Es konnte ein beim Kochen mit Salzsäure einen blauen Farbstoff lieferndes **Chromogen,** ferner **d-Mannit,** von dem die Tribenzalverbindung hergestellt wurde, neben Gerbstoffen und Kohlehydraten nachgewiesen werden.
2. In Uebereinstimmung mit dem Befund von R o b e r g wurde festgestellt, daß Herba Euphrasiae kein Saponin enthält.
3. In der Hauptuntersuchung wurden 4,5 kg Droge der Reihe nach mit Essigäther, Methanol und Wasser ausgezogen.
4. Im **Essigätherextrakt** wies man neben **Gerbstoffen** vom **Catechintypus** kleine Mengen eines **Kohlenwasserstoffes** $C_{21}H_{44}$ vom Schmelzpunkt 61° (korr.) nach.
5. Aus dem **Methanolextrakt** versuchte man vor allem das **Chromogen** zu isolieren. Es konnte auch nach chromatographischer Reinigung nur als amorpher, bräunlich-gelber, harzartiger Körper gewonnen werden. Das Chromogen zeigt im U.V.-Licht stark blaue Fluoreszenz und ist in Wasser und Weingeist leicht, in Essigäther und Aether schwer löslich. Fehling'sche Lösung wird nicht reduziert.

   In stark verdünnter Lösung tritt beim Erwärmen mit Salzsäure eine schön blaue Färbung auf. In konzentrierterer Lösung führt Hydrolyse mit verdünnter Schwefelsäure zu einem braunen, amorphen, schwer löslichen Körper neben einem aromatisch riechenden, flüchtigen Produkt und einer Zuckerfraktion. Es handelt sich also um ein **Glykosid.** Die Zucker lassen sich in ein Gemenge von in Azeton löslichen und unlöslichen Osazonen überführen. Die geringe Menge gestattete keine sichere Identifizierung. Es ist entweder Glukose, Fruktose oder Mannose vorhanden, Rhamnose ist möglich.

   Die Vermutung, es handle sich beim Chromogen um Aucubin, hat sich nicht bestätigt, indem es sich, im Gegensatz zu diesem, keiner katalytischen Hydrierspaltung unterwerfen läßt.
6. Aus dem Methanolextrakt wurde eine **ungesättigte Säure** der Formel $C_4H_4O_2(COOH)_2$ vom Schmelzpunkt 240—241° (korr.) in kristallisierter Form isoliert. Ihre Konstitution konnte infolge der kleinen zur Verfügung stehenden Menge nicht aufgeklärt werden.
7. Im **Kaltwasserextrakt** waren nur reduzierende Zucker, Gerbstoffe und Eiweißverbindungen nachzuweisen.

---

## Literaturverzeichnis.


1) Enz, J. B., Wittstein. Vierteljahresschrift für Prakt. Pharmacie, Bd. VIII, München 1859, S. 175 u. f.

2) Thoms, Handbuch der Pharmazie, Bd. V/2, S. 1586.

3) Zörnig, H., Arzneidrogen II. Teil, S. 301.

4) Melton und Sayre, Report on Proximate Analysis of Euphrasia, Journal of the American Pharmaceutical Association, April 1925, Vol. XIV, No. 4, Page 308 und Jahresber. d. Pharm. 60. Jahrg. 1925, S. 75.

5) Fuchs, Leonhart, New-Kreüterbüchlein, 1543.

6) Hegi, Flora von Mitteleuropa, Bd. VI, 1. Hälfte.

7) Sieg, H., Gottessegen der Kräuter einst und immerdar. Rowohlt Verlag Stuttgart-Berlin, 1939.

8) Fischer, Unsere Heilpflanzen, 1941, S. 60 u. f.

9) Wettstein, R. von, Monographie der Gattung Euphrasia, Leipzig 1896, Seite 14 u. f.

10) Schinz und Keller, Flora der Schweiz I. Teil: Exkursionsflora, 1923, S. 604 u. f.

11) Solereder, Anatomie der Dicotyledonen, S. 662. Fig. 135 C—F.

12) Hoch, F. A., Vergleichende Untersuchungen über die Behaarung unserer Labiaten, Scrophularineen und Solaneen, Freiburg i. Br., Diss. 1886, S. 49.

13) Born, A., Vergleichend-systematische Anatomie des Stengels der Labiaten und Scrophulariaceen, Berlin, Diss. 1886, S. 41/42.

14) Koch, E., Ueber die systematische Bedeutung der anatomischen Charaktere der Scrophulariaceen, Erlangen, Diss. 1895, S. 143.

15) Husemann, Die Pflanzenstoffe, Berlin 1871, S. 894.

16) Molisch, Das Vorkommen und der Nachweis des Indikans in der Pflanze nebst Beobachtungen über ein neues Chromogen. Sitzungsber. d. Akad. Wissensch. Wien, 1893 C II.

17) Wiesner, Die Rohstoffe des Pflanzenreiches, I. Band, 1927, S. 317.

18) Tunmann-Rosenthaler, Pflanzenmikrochemie, S. 640.

19) Braecke, M., Sur la présence d'un glucoside dédoublable par l'émulsine dans les genres Veronica, Euphrasia, Odontites, Bartsia et Pentstemon. Bull. de la Soc. de Chim. Biol., Tome VI, Juillet-Août 1924, No. 7, Page 665 und Jahresber. der Pharm. 59. Jahrg., 1924.

20) Müller, H., Der Nachweis und die Verbreitung des Rhinanthins (Pseudoindikan), Pharmaz. Monatshefte 1922, III, S. 149.

21) Ludwig, G., Archiv für Pharmazie, 1880, p. 289.

22) Bourquelot und Hérissey, Compt. rend. Acad. Sciences 134, 1441 (1902), 138, 1114 (1904); Ann. Chim. Phys. (8) 4, 289 (1905).

23) Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, 3. Band, zweite Hälfte, spez. Analyse II.

24) Nestler, A., Zur Kenntnis des Rhinanthocyans, Ber. deutsch. bot. Ges. 1920, XXXVIII, S. 117.

25) Wehmer, Die Pflanzenstoffe, Bd. II. S. 1125.

26) Bergmann, M. und Michalis, G., Ueber das Glucosid Aucubin. Ber. d. deutschen Chem. Gesellschaft 60 I, 1927. S. 935 u. f.

27) Flamm-Kröber, Die Heilkraft der Pflanzen, Hippokrates-Verlag. München, 1935, S. 17.

28) Flamm-Kröber, Rezeptbuch der Pflanzenheilkunde, Stuttgart-Leipzig, 1934, S. 147.

29) Kneipp, Das große Kneippbuch, München, 1935, S. 905.

30) Madaus, Handbuch der biochem. Heilmittel, Abt. die Heilpflanzen, Bd. II, S. 1328—33.

31) Bok, Kreutterbuch, 1565, S. 121.

32) Clarus, Handbuch der speziellen Heilmittel, 1860, S. 1003.

33) Dragendorff, Die Heilpflanzen der versch. Völker und Zeiten, 1898, S. 608.

34) Schulz, Vorlesungen über Wirkung und Anwendung der deutschen Arzneipflanzen, Leipzig 1919, S. 190.

35) Zechmeister u. Cholnoky, Die chromatographische Adsorptionsmethode, J. Springer, Wien 1937.

36) Kempf-Kutter, Schmelzpunkttabellen.

37) Karrer, P., Lehrb. d. org. Chemie.

38) Rosenthaler, Qual. pharmaz. Analyse.

39) Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. II/1, S. 768.

40) Houben-Weyl, Die Methoden der org. Chemie, Bd. 3, spez. Teil, S. 154.

41) Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Aufl. S. 301/02.

42) Roberg, Arch. d. Pharmaz. und Berichte der Deutschen pharmazeutischen Gesellschaft 1937, S. 145 u. ff.

43) Kofler, Die Saponine, Wien 1927, S. 125.

44) Jaretzky u. Lindner, Arch. d. Pharmaz. u. Ber. d. Deutschen Pharmaz. Ges., Heft 1. Januar 1939.

45) Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse, Bd. III/1.

46) Meyer, Analyse und Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen, Springer, Berlin 1931, S. 636.

47) Rosenthaler, Grundzüge der chemischen Pflanzenuntersuchung, Springer, Berlin 1928, S. 77.

48) Grün, Analyse der Fette und Wachse, Bd. I, Springer, Berlin 1925, S. 258.

49) Pregl, Die quantitative organische Mikroanalyse, Springer, Berlin 1930, S. 237.

50) Berssutski, W. P., Chemisches Zentralblatt, 1940 II 2, S. 1451.

51) Kariyone, T. u. Kondo, K., Untersuchungen über Aucubin, Journal of the Pharmaceutical Society of Japan, July 1928, Nr. 557, Vol. 48, Nr. 7, S. 90 u. f.

52) Gattermann, Die Praxis des org. Chemikers, 23. Aufl. 1933. S. 364.

53) Klein, Allg. Methoden der Pflanzenanalyse, Springer, Wien, 1931, S. 266.

54) Signer, R., Ueber eine Abänderung der Molekulargewichtbestimmungsmethode nach Barger, J. Liebigs Annalen der Chemie, Bd. 478, Heft 3, 1930, S. 246.